

Untersuchungen über die Stabilität von
Vitamin A in verschiedenartig gelagerten
Olivenölen und seine Stabilisierung
durch gebräuchliche Antioxydantien

Edmund Hollrotter

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. Johannes B r ü g g e m a n n

Untersuchungen über die Stabilität von Vitamin A in

verschiedenartig gelagerten Olivenölen und seine

Stabilisierung durch gebräuchliche Antioxydantien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Edmund Hollrotter

aus

München

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. Dr. Johannes B r ü g g e m a n n

Tag der Promotion: 26. Februar 1958

U N I - Druck, München 13, Amalienstraße 85

Inhaltsverzeichnis

Seite

I.	Vorwort	1
II.	Einleitung	2
III.	Die Bedeutung der Arbeit	3
IV.	Die Bedeutung der Arbeit für den Einzelnen	4
V.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gesellschaft	5
VI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Nation	6
VII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Welt	7
VIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	8
IX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	9
X.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	10
XI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	11
XII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	12
XIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	13
XIV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	14
XV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	15
XVI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	16
XVII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	17
XVIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	18
XIX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	19
XX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	20
XXI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	21
XXII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	22
XXIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	23
XXIV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	24
XXV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	25
XXVI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	26
XXVII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	27
XXVIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	28
XXIX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	29
XXX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	30
XXXI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	31
XXXII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	32
XXXIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	33
XXXIV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	34
XXXV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	35
XXXVI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	36
XXXVII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	37
XXXVIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	38
XXXIX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	39
XL.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	40
XLI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	41
XLII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	42
XLIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	43
XLIV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	44
XLV.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	45
XLVI.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	46
XLVII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	47
XLVIII.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	48
XLIX.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	49
L.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	50

Meinen lieben Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555216_0083

Inhaltsverzeichnis

Seite:

A. <u>Einleitung</u>	1
B. <u>Experimenteller Teil</u>	5
I. Versuchsprogramm	5
II. Methode zur Bestimmung von Peroxyden in Olivenöl	7
III. Verwendete Antioxydantien	9
IV. Methodik zur Bestimmung von Vitamin A in Olivenölen	11
1.) Die Verseifung	11
2.) Methodik der kolometrischen Messung am Stufen- photometer nach Pulfrich	12
V. Verwendete Reagenzien	13
VI. Aufstellung einer Eichkurve	15
VII. Untersuchungsergebnisse	21
Versuche I, II, III, IV und V	
C. <u>Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse</u>	40
D. <u>Literaturverzeichnis</u>	68
Lebenslauf	69

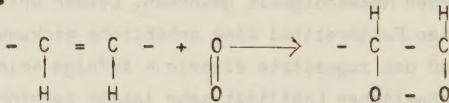
A. Einleitung

Zahlreiche Erkrankungen und Ausfallserscheinungen vor allem bei Rindern und Schweinen, insbesondere ausgelöst durch die fortschreitende Leistungssteigerung bei diesen Nutztieren, sind ursächlich auf den Mangel verschiedener Vitamine im Tierkörper zurückzuführen. Dieser zutage tretende Mangel an Vitaminen kann durch unzureichende Zufuhr mit dem Futter oder aber infolge gestörter Resorption, erhöhtem Verbrauch an Vitaminen bei Erkrankungen sowie bei vermehrter Ausscheidung der Vitamine durch den Tierkörper, etwa mit der Milch, entstehen. In dieser Hinsicht nimmt die durch Vitamin A-Mangel entstehende Hypovitaminose oder Avitaminose bei unseren Nutztieren, sowie deren Bekämpfung eine besondere Stellung ein.

Die Bereitstellung von Vitamin A in Futtermitteln verschiedenster Art ist deshalb für die Ernährung und Gesunderhaltung der landwirtschaftlichen Nutztiere zu einer dringenden Notwendigkeit geworden. Leider erfahren die mit Vitamin A angereicherten Futtermittel eine erhebliche Wirkungsminderung durch die Tatsache, daß das zugesetzte Vitamin A infolge seiner starken Reaktionsfähigkeit und chemischen Labilität sehr leicht zerstört wird und deshalb oftmals, vornehmlich bei länger gelagerten Futtermitteln, den Nutztieren nicht mehr oder in unzureichender Menge zur Verfügung steht. Wegen dieser ausserordentlich schnellen Inaktivierung des Vitamins A, vor allem durch molekularen Sauerstoff und Sauerstoffüberträger in den verschiedenen Futtermittelmischungen, versucht man es durch geeignete Stoffe (Antioxydantien) hierin zu stabilisieren. Das öligen oder ölhaltigen Futtermitteln zugesetzte Vitamin A ist dem zerstörenden Einfluß besonderer Verderbstoffe, die in gelagerten Nahrungsölen auftreten können, ausgesetzt. Eine ausreichende Stabilität von Vitamin A in Nahrungsölen ist also vornehmlich abhängig von der Haltbarkeit dieser Öle selbst. Bekanntlich gibt es verschiedene Arten von Fettverderb in pflanzlichen und tierischen Ölen, deren Reaktionsverlauf und Intensität von der Zusammensetzung der Öle und von äußeren Faktoren, welche auf sie einwirken, außerordentlich abhängig ist.

Die Oxydation eines Öles durch Sauerstoff ist wohl die häufigste Ursache des Ölverderbs überhaupt. Sie ist rein chemischer Natur und auf eine ursächlich von selbst ablaufende Oxydation der Öle durch aufgenommenen Luftsauerstoff zurückzuführen (Autoxydation).

Wegen der außerordentlichen Bedeutung des autoxydativen Fettverderbs bei Nahrungsölen und -fetten im Hinblick auf die Haltbarkeit von Vitamin A, soll auf diese Art des Fettverderbs näher eingegangen werden. Die im Sinne einer autokatalytischen Kettenreaktion ablaufenden Zersetzungsvorgänge bei dieser Art von Fettverderb sind gekennzeichnet durch das Auftreten peroxydischer Verbindungen. Diese chemisch hoch aktiven Stoffe können eine weitgehende Zerstörung des reaktionslabilen Vitamin A herbeiführen. Es sind in erster Linie die essentiellen hochungesättigten Fettsäuren (Linolsäure und Linolensäure) wie sie das Olivenöl in relativ großer Menge enthält, die einer bevorzugten Oxydation durch Luftsauerstoff anheimfallen. Der Reaktionsvorgang der Autoxydation von Ölen ist äußerst verwickelt und besonders in seinen weiteren Stufen bisher noch nicht gänzlich aufgeklärt. Über die Theorie des Mechanismus, durch welche sich ungesättigte Fettsäuren mit Luftsauerstoff verbinden, gibt es mehrere Deutungen. Nach neueren Anschauungen werden die Fettsäuremoleküle durch Licht bzw. Strahlungsenergie aktiviert und erst dadurch einer Oxydation zugänglich (1). Besondere Angriffspunkte für den Luftsauerstoff stellen diejenigen gesättigten Fettsäuren dar, die in ihrer Kohlenstoffkette konjugierte Doppelbindungen enthalten.



Die auf dem Wege dieser oxydativen Primärreaktion entstehenden Fettsäureperoxyde (3) sind in erster Linie für eine mögliche Zerstörung des Vitamin A in Nahrungsölen verantwortlich zu machen. Das Ausmaß einer Peroxydbildung ist in hohem Maße von der Menge des Sauerstoffzutritts, der Höhe der einwirkenden Strahlungsenergie und der Temperatur abhängig (4). Daher kann durch Senkung der Aufbewahrungstemperatur, durch Verhinderung von Lichtzutritt sowie ausreichenden Oxydationsschutz die Haltbarkeit eines Öles weitgehend verlängert werden.

Andererseits kann aber der Verderb eines Nahrungsöles durch Prooxydantien (2) (Oxydationsbeschleuniger), welche von Natur aus in den Ölen vorhanden sind, oder aber durch besondere Umstände bei Gewinnungsmethoden in diese gelangen, begünstigt werden. Insbesondere metallische Prooxydantien, wie Kupfer- und Eisenverbindungen können auf katalytischem Wege als Sauerstoffüberträger in Frage kommen (3).

Neben dem Vorkommen der erwähnten prooxygenen Stoffe in vegetabilischen Ölen, findet man aber auch natürlicher Weise in wechselnder Menge hierin Substanzen, die ihrerseits antioxydativ wirken. Es sind dies hauptsächlich Tokophero-

le. Die Tokopherole sind zyklische Hydrochinonderivate, besitzen starke Reduktionseigenschaften und sind wegen ihrer lipophilen Seitenkette sehr gut fettlöslich.

Auf Grund dieser Eigenschaften findet in der Technik vor allem das Alpha-Tokopherol zur Öl- und Vitamin A-Stabilisierung Verwendung. Auch die ebenfalls antioxydativ wirkende Ascorbinsäure konnte in pflanzlichen Ölen nachgewiesen werden (2). Sie ist im Gegensatz zu Alpha-Tokopherol nicht fähig, Wasserstoff an ein entstandenes Fettperoxyd zu liefern, sondern benötigt dazu als Vermittler ein phenolisches Antioxydans (3). Durch die Raffination der vegetabilischen Öle werden nicht selten diese natürlichen Antioxydantien erheblich reduziert oder gänzlich zerstört (1). Ihr Anteil in den Nahrungsölen ist großen Schwankungen unterworfen.

Schwankung der prozentuellen Fettsäureanteile
in Olivenöl (1)

Myristinsäure:	0,1 - 1,1 %
Palmitinsäure:	9,4 - 14,7 %
Stearinsäure:	1,0 - 3,6 %
Ölsäure	70,3 - 85,8 %
Linolsäure:	7,7 - 12,2 %

Bei gleichartigen vegetabilischen Nahrungsölen, selbst des gleichen Herkunftslandes, können auf Grund verschiedener Erntezeiten oder ungleichen Reifegrades der Ölfrüchte, oder als Folge verschiedener Gewinnungsmethoden bedeutsame Unterschiede bezüglich Art und Menge der darin enthaltenen Fettsäuren, Prooxydantien und Antioxydantien bestehen.

Da die Fettsäurezusammensetzung eines Öles für seine Haltbarkeit und diese wiederum für die Stabilität eines Vitamin A-Zusatzes von ausschlaggebender Bedeutung ist, wurde, um Fehlerquellen in dieser Richtung weitgehend auszuschalten, im späteren experimentellen Teil dieser Arbeit, das jeweils für eine Versuchsserie benötigte Ölmaterial stets einer einheitlichen Ölcharge entnommen (Oleum Olivarum D.A.B. 6).

Außer den 'natürlichen Antioxydantien' finden in neuerer Zeit zur Verzögerung der Autoxydation bei Nahrungsölen immer mehr naturfremde, künstliche

Antioxydantien der verschiedensten Stoffklassen Verwendung. Sie alle besitzen wie die natürlichen Antioxydantien ausgeprägte Reduktionseigenschaften. Nach neueren Anschauungen soll die eigentliche Wirkung der Antioxydantien darauf beruhen, daß sie durch Kettenabbruch in dem autokatalytisch ablaufenden Ölverderbsvorgang eine Verzögerung der Bildung von Fettsäureperoxyden verursachen (3). Tatsächlich findet auch bei Gegenwart von Antioxydantien in Nahrungsölen, wenigstens innerhalb eines gewissen Zeitraumes, eine unterdrückte Bildung von Peroxyden (5) statt. Die Antioxydantien beeinflussen die Fähigkeit eines Nahrungsöles, Sauerstoff aufzunehmen, dabei nicht (5). Ihre Wirkung besteht also nicht so sehr in einer Verhinderung oder Herabsetzung der Oxydation eines Öles, sondern vielmehr in einer Änderung des Oxydationsweges, indem der vom Öl aufgenommene Sauerstoff für die Oxydation des Antioxydants größtenteils selbst verbraucht wird. Da aber im einzelnen der Mechanismus dieses Vorganges noch keineswegs eindeutig festliegt und man deshalb für die Verwendung der Antioxydantien zur Stabilisierung von Vitamin A eines zuverlässigen Ausgangspunktes entbehrt, kann über die Wirksamkeit der verschiedenen Antioxydantien vorläufig nur der empirisch statistische Versuch Klarheit bringen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte deshalb durch experimentelle Versuche die Brauchbarkeit einiger Antioxydantien, hinsichtlich ihrer Fähigkeit Vitamin A in Olivenölen zu stabilisieren, geprüft werden.

Da unter normalen Lagerungsbedingungen die Verderbvorgänge in vegetabilischen Ölen nur relativ langsam fortschreiten und deshalb während der Untersuchungsintervalle ein für aufschlußreiche Messungen zu geringer Ölverderb bzw. Peroxydanstieg zu erwarten war, wurden durch besondere Vorbehandlung die Ölproben gealtert und damit eine Beschleunigung der Verderbvorgänge erreicht.

B. Experimenteller Teil

I. Versuchsprogramm

3 Proben Olivenöl (Oleum Olivarum D.A.B. 6) einer einheitlichen frischen Ölcharge wurden unter folgenden Bedingungen vorbehandelt:

- a) im Thermostaten (+ 37° C)
- b) bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
- c) im Eisschrank (+ 2° C) als Kontrollöl.

Diese "vorbehandelten" Olivenölproben wurden in verschiedene Muster unterteilt, die in braunen Schliffflaschen aufbewahrt wurden (100 cm³) und jeweils einen Zusatz von 800 IE Vitamin A Acetat pro 1 g Ölmenge erhielten. Die Vitaminierung dieser und aller später erwähnten Olivenöle erfolgte über einer selbst bereiteten Auflösung von all-trans-Vitamin A-Acetatkristallen in Olivenöl, die spektrophotometrisch vermessen, 40000 IE Vit.A/g enthielt (= Vit. A Standard).

Anschließend erfolgte eine Zusammenstellung der vitaminisierten Ölproben zu einzelnen Versuchsserien, wobei in jeder Serie den Ölen ein zu prüfendes Antioxydans in einer Konzentration von 0,05 % zugesetzt wurde. Die vitaminisierten und mit Antioxydantien versetzten Ölproben wurden entweder ihrer unterschiedlichen "Vorbehandlung" entsprechend weitergelagert oder aber bei gewöhnlichen Zimmertemperaturen aufbewahrt.

Der Vitamin A-Gehalt wurde bei sämtlichen Ölproben in bestimmten Zeitabständen untersucht.

Die Brauchbarkeit verschiedener Antioxydantien zur Stabilisierung von Vitamin A wurde auch bei "frischen" Olivenölen geprüft, die keine besondere Vorbehandlung erfahren hatten. Dazu wurden frische Olivenölproben einer einheitlichen Ölcharge gleichzeitig mit einem Zusatz von 800 IE Vitamin A pro 1 g Ölmenge (Vit.A-Acetat) und 0,05 % eines Antioxydans versehen.

Die Weiterbehandlung dieser Versuchsserie mit frischem Olivenöl erfolgte nach den gleichen Gesichtspunkten wie oben für die "vorbehandelten" Olivenölproben aufgeführt wurde.

Auch hier wurde wieder die Abnahme des Vitamin A-Gehaltes in regelmäßigen

Zeitabständen untersucht.

Wie schon erwähnt, dürfte der besonders in gelagertem Olivenöl auftretende Vitamin A-Verlust in direktem Zusammenhang mit der Bildung von Peroxyden hierin stehen. Der Versuch lag deshalb nahe, eine Beziehung zwischen der Abnahme des Vitamin A-Gehaltes in einem Olivenöl einerseits und der Zunahme von leicht spaltbaren Peroxyden in solchen Ölen andererseits herzustellen. Es wurde deshalb die Menge der spaltbaren Peroxyde zu Beginn eines Lagerungsversuches und zum zweiten Male nach Ablauf der Lagerungsfrist untersucht.

II. Methode zur Bestimmung von Peroxyden in Olivenölen

Die analytische Ermittlung des Peroxydgehaltes wurde mit Hilfe der jodometrischen Peroxydzahlbestimmung nach L e a (6) durchgeführt. Es handelt sich dabei um eine Titration des aus Kaliumjodid in der Wärme durch die im Fett vorhandenen Peroxyde freigesetzten Jods.

In einem Schliffkolben wird ca. 1 g Öl in 20 cm³ Eisessig-Chloroform-Gemisch (Verhältnis 2:1) gelöst. Man gibt 1 - 2 g Kaliumjodid dazu und erhitzt einige Sekunden lang bis zum Sieden des Gemisches. Darauf kühlt man das Reaktionsgemisch schnell unter der Wasserleitung ab und gießt es in eine verdünnte Kaliumjodidlösung. Das ausgeschiedene Jod wird möglichst bei schwachem Tageslicht mit n/500 Natrium-Thiosulfatlösung gegen Stärke titriert. Die Anzahl ml n/500 Na₂S₂O₃-Lösung, die 1 g Fett bei dieser Reaktion verbraucht, bezeichnet man als die L e a - Zahl des Fettes. Die Höhe der L e a - Zahl verhält sich proportional zur Menge der in 1 g Fett vorhandenen leicht spaltbaren Peroxyde. Ein möglicherweise aus den Reagenzien stammender Blindwert ist bei allen Untersuchungen zu berücksichtigen.

Die bei diesen Versuchen in den Ölproben festgestellten Peroxydmengen errechneten sich mit einer durchschnittlichen Fehlerbreite von $\pm 10\%$ aus den Ergebnissen von 2 Parallelbestimmungen.

Bei der jodometrischen Bestimmung der Peroxydzahl ist zu beachten, daß die ablaufenden Reaktionsvorgänge außergewöhnlich leicht durch äußere Einwirkungen beeinflusst werden können. Besondere Lichteffekte, sekundäre Mitwirkung des Luftsauerstoffs und unterschiedliches Erwärmen des Reaktionsgemisches können zu nicht unbeträchtlichen Fehlerquellen führen.

Dies geht besonders aus einer von FRANZKE (6) zusammengestellten Versuchsreihe zur jodometrischen Bestimmung des Peroxydgehaltes mittels verschiedener Versuchsanordnungen hervor. Obwohl das Prinzip zur Bestimmung der Peroxydzahl bei diesen verschiedenen Versuchsanordnungen dasselbe war, traten ganz erhebliche Unterschiede in den Ergebnissen bei den verschiedenen Arbeitsweisen auf. Der Verfasser gelangt deshalb zu dem Schluß, daß wegen der Unkontrollierbarkeit der sich abspielenden Nebenreaktionen bei den Peroxydzahlbestimmungen, die häufig sehr unterschiedlichen Ergebnisse, geradezu als die Relativwerte der einzelnen Arbeitsmethoden zu betrachten sind.

Nach TÄUFEL (11) liegt ein Teil des durch Olivenöl aufgenommenen Sauerstoffs in nicht peroxydischer, also jodometrisch nicht bestimmbarer Form vor. Es ist

deshalb mit Recht anzunehmen, daß neben den analytisch erfaßbaren peroxydischen Verbindungen auch noch andere Sauerstoffträger die Stabilität von Vitamin A in Olivenölen beeinflussen können.

III. Für unsere Untersuchungen standen uns die folgenden Antioxydantien zur Verfügung

1. Gereinigtes Ascorbyl-Palmitat

Dieses Antioxydans, ein weichkörniges Pulver, besitzt in Olivenöl schlechte Löslichkeit. Die benötigte Menge wurde daher zuerst in etwas Arachisöl bei 70° C gelöst und so den Ölproben zugefügt. *)

2. α-Tokopherol

Ein blaßgelbes zähes Öl, mit guter Löslichkeit in Olivenöl. *)

3. Ein Antioxydans-Gemisch (Fa. Hoffmann-La Roche)

Nach Angaben der Herstellerfirma ein aus natürlichen Antioxydantien bestehendes wachsartiges Gemisch, das unter anderem Ascorbinsäure und Tokopherol enthält. Es soll in einer Konzentration von 0,1 % Schmalz für 1 Jahr stabilisieren.

Die Substanz war nach geringem Erwärmen im Wasserbad in Olivenöl gut löslich. *)

4. Diphenyl-p-Phenylendiamin = (D.P.P.D.);

Vom hiesigen Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere zur Verfügung gestellt.

Das Antioxydans lag für die Versuche in einer violetten kristallinen Form vor. Die Löslichkeit in Olivenöl war gut.

5. 2,6 - di - tertiärbutyl - 4 - methylphenol = (B.H.T.);

ebenfalls vom Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere zur Verfügung gestellt.

Dieses Antioxydans findet in jüngster Zeit zur Stabilisierung von Ölen und Fetten weitgehende Verwendung. Die weißlichen Kristalle der Substanz sind ausgezeichnet in Olivenöl löslich. **)

*) Für die Überlassung der Muster sind wir der Firma Hoffmann-La Roche-Basel zu besonderem Dank verpflichtet.

**) Für die Überlassung eines Musters sind wir der Firma Cyanamid, G.m.b.H. München, zu besonderem Dank verpflichtet.

Alle hier aufgeführten Antioxydantien wurden in einer Konzentration von 0,05 % den Ölen zugefügt. Wir folgen damit im wesentlichen den Dosierungsvorschlägen der Herstellerfirmen und lagen mit Zusätzen von 0,05 % Antioxydants eher an der oberen als an der unteren Grenze empfohlener Dosierungsspielräume.

IV. Methodik zur Bestimmung von Vitamin A in Olivenölen

1. Die Verseifung

Da eine direkte Bestimmung des Vitamin A-Gehaltes in Ölen nicht möglich ist, muß das Vitamin A nach alkalischem Aufschluß (= Verseifung) des Ölmateri- als aus diesem extrahiert werden. Bei der Verseifung von Ölproben stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung:

a) die Heißverseifung

b) die Kaltverseifung.

Bei der von mir angewandten Methode der Heißverseifung ist zufolge einer kürzeren Verweildauer des Vitamins A im Verseifungsgemisch, im Gegensatz zur längerdauernden Kaltverseifung, ein geringerer Verlust des oxydationsempfindlichen Vitamins A zu erwarten. Sie bringt jedoch den Nachteil der Hitze- einwirkung mit sich. Versuche haben aber ergeben, daß die Vitamin A-Verluste innerhalb einer Fehlergrenze von ca. 10 % liegen, wenn die Verseifung in Gegenwart von Antioxydantien durchgeführt wird. Insbesondere auch der katalytische Einfluß anwesender Spurenelemente auf die Oxydation von Vitamin A (Cu, Fe) kann durch einen Zusatz von Antioxydantien, wie beispielsweise Hydrochinon, weitgehend herabgesetzt werden.

Durchführung der Heißverseifung.

2 g der zu untersuchenden Ölmenge wurden in einem Destillierkölbchen pro 1 g Ölmenge mit 10 cm³ einer 10%igen alkoholischen Kalilauge versetzt. Nach Zugabe von 1 cm³ 10%iger alkoholischer Hydrochinonlösung als Oxydationsschutz wird das Gemisch am Rückflußkühler, wenn möglich unter Lichtausschluß, im Wasserbad bei etwa 80°C 20 bis 30 Minuten lang verseift. Anschließend wird das syrupartige Verseifungsprodukt in einen Schütteltrichter überführt. Durch drei- bis viermaliges Ausschütteln mit kleinen Portionen (50 ml) peroxydfreien Diäthyläthers extrahiert man das Vitamin A. Die Aetherextrakte werden vereinigt und mit leicht siedendem Petroläther auf etwa das doppelte Volumen aufgefüllt. Ein so aus gleichen Anteilen Diäthyläther und Petroläther bestehendes Lösungsmittelgemisch ist sehr hydrophob und vermag kein Wasser mehr in Lösung zu halten.

Zur Entfernung des Alkohols wäscht man das Diäthyl-Petroläthergemisch gründlich mit destilliertem Wasser in einem Schütteltrichter aus.

Das jetzt alkohol- und wasserfreie Petroläther-Äthergemisch destilliert man nach Überführung in ein Destillierkölbchen am Rücklaufkühler im warmen Wasserbad ab. Der Rückstand wird sofort in wasserfreiem Chloroform aufgenommen und für die sich anschließende kolometrische Messung am Stufenfotometer bereitgestellt.

2. Methodik der kolometrischen Messung am Stufenfotometer nach PULFRICH

Die kolometrische Vitamin A-Bestimmung beruht auf der chemischen Bildung von meßbaren Farbkomplexen zwischen Vitamin A und Metallhalogeniden.

Es entsteht durch Reaktion zwischen Vitamin A und Eisenchlorid ein für einige Minuten stabiler blauer Farbkomplex, dessen Extinktion mit einer maximalen Absorption im Wellenbereich von 600 bis 620 m μ stufenphotometrisch gemessen werden kann. Die Farbintensität der Komplexverbindung ist dem Vitamin A-Gehalt der Testlösung proportional (7).

Durchführung der Messung.

2 cm³ der zu untersuchenden Vitamin A-haltigen Chloroformlösung werden in einem Reagenzglas mit 0,025 cm³ des FeCl₃-Salzsäure-Acetylchlorid-Reagenses = (F6) unter leichtem Schütteln durchgemischt und darauf vorsichtig mit 0,025 cm³ Essigsäureanhydrid überschichtet. Der an der Berührungsfläche entstehende blaue Farbring wird durch langsame Schüttelbewegungen nach unten entwickelt. Anschließend wird eine Küvette d = 1 mit dem homogen blaugefärbten Reaktionsgemisch gefüllt. Die Extinktionsermittlung im Stufenfotometer nach PULFRICH gegen Chloroform in einer Vergleichsküvette erfolgt bei Spektralfilter S61. Ist die Extinktion größer als 0,7, so muß die Testlösung wegen leicht auftretender Ablesefehler in höheren Extinktionsbereichen weiter verdünnt werden. Die Extinktionsermittlung sollte auf jeden Fall in zwei verschiedenen Konzentrationen vorgenommen werden, um evtl. Fehler bei der Farbreaktion oder beim Ablesen verhindern zu können. Mit Hilfe einer Eichkurve kann der Vitamin A-Gehalt der zur Messung gelangenden Chloroformlösung errechnet werden.

V. Verwendete Reagenzien

Wegen des außerordentlich subtilen Analysenganges bei der Extraktion und Messung von Vitamin A mußte auf die Reinheit der verwendeten Reagenzien ganz besonderer Wert gelegt werden.

1. Diaethylaether D.A.B.6.

Käuflicher Diaethylaether, über einer 5%igen Eisen-II-Sulfatlösung aufbewahrt, wird dreimal mit Wasser gewaschen und anschließend destilliert. Das Destillat wird mit Hilfe von Natriumsulfat getrocknet. Die jeweils für einen Tag benötigte Äthermenge darf nur einem frischen Destillat entnommen werden.

2. Alkoholische KOH-Lösung

10 g Kaliumhydroxyd werden in 100 ccm 96%igen Äthylalkohol gelöst. Nur eine noch nicht verfärbte Lösung ist für die Verseifung brauchbar. Zweckmäßigerweise ist auch die KOH-Lösung täglich frisch zu bereiten.

3. Alkoholische Hydrochinonlösung 10%ig

4. Chloroform D.A.B.6

wird dreimal mit destilliertem Wasser ausgeschüttelt, mittels geglühtem Natriumsulfat getrocknet und anschließend im Wasserbad abdestilliert. Die erste und letzte Fraktion des Destillats (je 10%) wird verworfen. Anschließend wird das so vorbehandelte Chloroform über hochaktivem Aluminiumoxyd im Eisschrank aufbewahrt, wo es bei öfterem Umschütteln längere Zeit phosgenfrei haltbar ist.

Erfahrungsgemäß ist für eine auswertbare Farbentwicklung, bei der Reaktion zwischen Vitamin A und dem FeCl_3 -Reagens in der Testlösung, ein Chloroform von besonderer Oberflächenspannung notwendig. Dieses erhält man, wenn das völlig wasserfreie, über hochaktiviertem Aluminiumoxyd (siehe Reagens Nr. 5) aufbewahrte CHCl_3 vor seiner Verwendung durch eine mehrere Zentimeter hohe Schicht desaktivierten Aluminiumoxydes (siehe Reagens Nr. 6) in der Chromatographieröhre geschickt wird.

5. Hochaktives Aluminiumoxyd

Im Muffelofen wird Aluminiumoxyd nach BROCKMANN (Firma E. Merk) sechs

Stunden bei ca. 500°C gehalten. Nach Abkühlung im Exsiccator erfolgt Lagerung in trockenen Schliffflaschen.

6. Desaktiviertes Aluminiumoxyd

30 ml eines hochaktivierten Al_2O_3 werden in einem Schliffglas mit 2 ccm destilliertem Wasser versetzt und bis zum Zerfallen der sich anfangs bildenden Klümpchen geschüttelt.

7. F₆-Reagens

5 g FeCl_3 Kristl. (= $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) werden zu 100 ml HCl ($d = 1,19$) gelöst. 2 ccm dieser 5%igen Salzsäure- FeCl_3 -Lösung werden mit der gleichen Menge Acetylchlorid p.a. versetzt. Nach Abwarten der Reaktion stellt man das Reaktionsgemisch (= F_6) für einige Minuten bei ca. 100°C in den Thermostaten. Es ist zweckmäßig, das F_6 -Reagens jeden Tag neu zu bereiten.

VI. Aufstellung einer Eichkurve

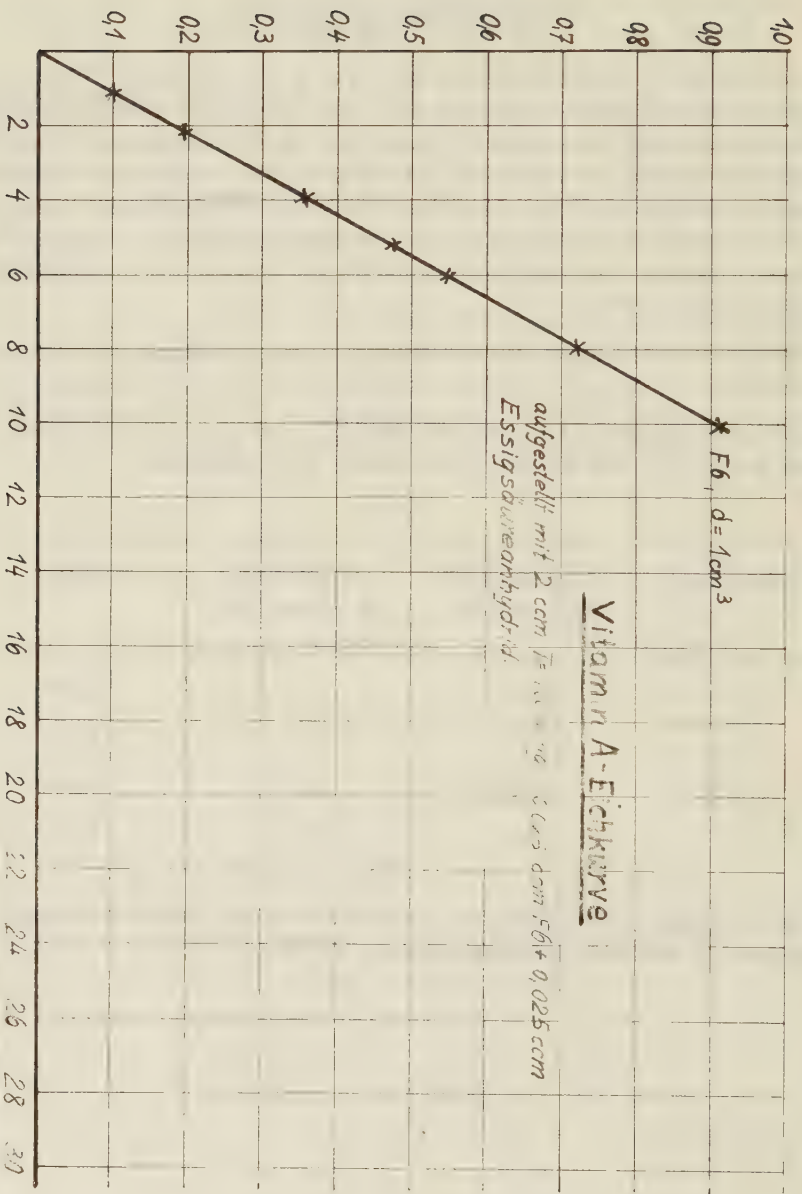
1 Gramm Vogan (= Vitaminkonzentrat der Firma E. Merk mit 40000 IE Vit. A/g) wird quantitativ mit phosgenfreiem Chloroform in ein 100 ccm-Meßkölbchen überführt und bis zur Marke mit CHCl_3 aufgefüllt. Durch entsprechende Verdünnungen dieser Lösung (1 ccm Lösung = 400 IE) mit CHCl_3 erfolgte die Aufstellung einer Konzentrationsreihe, deren Extinktionswerte durch Eintragen in ein Koordinatensystem die benötigte Extinktions-Konzentrationskurve ergab. Mittels dieser Eichkurve kann der Vitamin A-Gehalt der verschiedenen Testlösungen rückgerechnet werden.

Die folgende Tabelle gibt die Verdünnungen einer Stammlösung von 40 IE Vit. A/ccm an.

1 g Vogan = 40.000 IE Vit.A ad 100 ccm CHCl_3 = 400 IE Vit.A/ccm; 10 ccm 400 IE/Vit.A/g + 100 ccm CHCl_3 = 40 IE Vit. A/g = Stammlösg.

Stammlösung	Verdünnung mit CHCl_3 in ccm	Vit.A-Gehalt d. Lösung in IE/ccm	Extinktion
1	19	2	0,19
1	9	4	0,37
1,5	8,5	6	0,55
1	4	8	0,73

Die erhaltenen Extinktionen sind die Mittelwerte aus jeweils 4 Messungen bei Filter S 61 mit einer Schichtdicke von $d = 1$ cm.



TE: 1 cm³ / ml Testlösung

Zum besseren Verständnis der im weiteren Verlauf dieser Arbeit gewählten Nomenklatur der untersuchten Olivenölproben soll die folgende Tabelle dienen.

Versuch I

untersuchte Ölproben:

A₁ Öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage im Eisschrank (+2° C)

Lagerung:

178 Tage im Eisschrank (+2° C)

B₁ Öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage im Thermostaten (+37° C)

Lagerung:

178 Tage im Thermostaten (+37° C)

C₁ Öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage bei Zimmertemperaturen mit
Luft-durchperlt

Lagerung:

178 Tage bei Zimmertemperaturen mit
Luft-durchperlt

Versuch II

untersuchte Ölproben:

A₂ Öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage im Eisschrank (+2° C)

Lagerung:

178 Tage im Eisschrank (+2° C)

+ 0,05% Ascorbylpalmitat

B₂ Öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage im Thermostaten (+37° C)

Lagerung:

178 Tage im Thermostaten (+37° C)

+ 0,05% Ascorbylpalmitat

C₂ Öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage bei Zimmertemperaturen mit
Luft durchperlt

Lagerung:

178 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft
durchperlt + 0,05% Ascorbylpalmitat

A ₃ öl - 800 IE Vit.A/g	
<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+2° C)
<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Eisschrank (+2° C)
	+ 0,05% α -Tokopherol
B ₃ öl - 800 IE Vit.A/g	
<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+37° C)
<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Thermostaten (+37° C)
	+ 0,05% α -Tokopherol
C ₃ öl - 800 IE Vit.A/g	
<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
<u>Lagerung:</u>	178 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
	+ 0,05% α -Tokopherol

Versuch III

untersuchte Ölproben:

D ₁ öl - <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+2° C)
	+ 800 IE Vit. A/g
<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.) (ohne Antioxydantien-Zusatz)
D ₂ öl - <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+2° C)
	+ 800 IE Vit. A/g
	+ 0,05% Ascorbylpalmitat
<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
D ₃ öl - <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+2° C)
	+ 800 IE Vit. A/g
	+ 0,05% α -Tokopherol
<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
E ₁ öl - <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+37° C)
	+ 800 IE Vit. A/g
<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.) (ohne Antioxydantien-Zusatz)

- $E_2\ddot{O}1$ - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten ($+37^{\circ}C$)
+ 800 IE Vit. A/g
+ 0,05 % Ascorbylpalmitat
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
- $E_3\ddot{O}1$ - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten ($+37^{\circ}C$)
+ 800 IE Vit. A/g
+ 0,05 % α -Tokopherol
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
- $F_1\ddot{O}1$ - Vorbehandlung: 128 Tage mit Luft durchperlt
+ 800 IE Vit. A/g
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
(ohne Antioxydantien-Zusatz)
- $F_2\ddot{O}1$ - Vorbehandlung: 128 Tage mit Luft durchperlt
+ 800 IE Vit. A/g
+ 0,05 % Ascorbylpalmitat
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
- $F_3\ddot{O}1$ - Vorbehandlung: 128 Tage mit Luft durchperlt
+ 800 IE Vit. A/g
+ 0,05 % α -Tokopherol
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)

Versuch IV

untersuchte Ölproben:

- $g_1\ddot{O}1$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
Lagerung: im Eisschrank ($+2^{\circ}C$)
- $h_1\ddot{O}1$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
Lagerung: im Thermostaten ($+37^{\circ}C$)
- $i_1\ddot{O}1$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen
- $g_2\ddot{O}1$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürliches Antioxydantiengemisch
Lagerung: im Eisschrank ($+2^{\circ}C$)
- $h_2\ddot{O}1$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: im Thermostaten ($+37^{\circ}C$)

- i₂Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen
- g₃Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.
Lagerung: im Eisschrank (+ 2° C)
- h₃Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.
Lagerung: im Thermostaten (+ 37° C)
- i₃Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.
Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

Versuch V

untersuchte Ölproben:

- K₁Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
Lagerung: im Thermostaten (37° C)
- K₂Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: im Thermostaten (37° C)
- K₃Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.
Lagerung: im Thermostaten (37° C)
- M₁Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen
- M₂Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen
- H₃Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.
Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

VII. Untersuchungsergebnisse

Versuch I:

Vergleichende Untersuchungen über die Stabilität von Vitamin A in verschiedenartig gelagerten Olivenölen ohne Zusatz von Antioxydantien

Für die Untersuchungen wurden 3 Proben Olivenöl gleicher Provenienz für eine Zeitdauer von 128 Tagen zum Zwecke einer Vorbehandlung wie folgt gelagert:

- a) bei $+2^{\circ}\text{C}$ im Eisschrank
- b) bei $+37^{\circ}\text{C}$ in Thermostaten
- c) bei Zimmertemperaturen unter ständiger Durchperlung mit Luft

Das bei diesen Versuchen verwendete Olivenöl (oleum olivarium D.A.B.6), wurde vor Beginn der Lagerung mit Hilfe der eingangs erwähnten jodometrischen Titration nach LEA auf seinen Peroxydgehalt untersucht. Die gemessenen Lea-Zahlwerte schwankten bei diesem frischbezogenen Olivenöl zwischen 4 und 6. Sie errechneten sich aus zwei Lea-Zahlbestimmungen mit einer durchschnittlichen Schwankung von $\pm 10\%$. Am Ende der Vorbehandlungszeit (128 Tage) waren die Lea-Zahlen je nach Lagerungsart der Olivenölproben unterschiedlich angestiegen.

Die Olivenölproben wurden nach Abschluß der Vorbehandlung (128 Tage) auf einen Vitamin A-Gehalt von 800 IE/g eingestellt. Die so vitaminisierten Olivenölproben wurden unter denselben Bedingungen wie bei der Vorbehandlung über einen Zeitraum von 6 Monaten weitergelagert und der Vitamin A-Gehalt in bestimmten Zeitabständen untersucht. Die Vitamin A-Analysen erfolgten 32, 55, 92, 141 und 178 Tage nach Vitaminisierung der einzelnen Proben. Aufarbeitung der Ölproben und Messung des Vitamin A-Gehaltes wurden nach den schon beschriebenen Methoden durchgeführt (s.S. 7)

Tabelle 1

Anstieg der "Lea-Zahl" in unterschiedlich gelagerten Olivenölen

Lage- rungsart d. Oliven- öle	<u>Lea z a h l</u>		Vitaminie- rung d. Olivenöle	<u>Lea z a h l</u>	
	Beginn d. Vorbehand- lung 1. Tag	Ende d. Vorbe- handlg. 128. Tg.		Beginn d. La- gerung 1. Tag	Ende der Lagerung 178 Tage
Eisschr. +2° C	4 - 6	10,0	800 IE Vit. A/g	10,0	16,0
Thermost. 37° C	4 - 6	43,0	800 IE Vit. A/g	43,0	67,0
Luft durchperl	4 - 6	67,0	800 IE Vit. A/g	67,0	173,0

Die Vitamin A-Verluste während der 178-tägigen Lagerung veranschaulicht folgende Tabelle:

A ₁ Öl - 800 IE Vit. A/g	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
B ₁ Öl - 800 IE Vit. A/g	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
C ₁ Öl - 800 IE Vit. A/g	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperl
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperl.

Tabelle 2

Ölproben	Lea-Zahlen nach 128 T. Vorbehandl.	Analysierter Vitamin A-Gehalt in % des theoretischen Wertes (800 IE Vit.A/g) nach Lage- rungszeit in Tagen					Lea-Zahlenanstieg n. 178 Tagen La- gerung
		32	55	92	141	178	
A ₁	10,0	89,0	87,0	84,0	80,0	79,0	16,0
B ₁	43,0	17,0	12,0	5,0	3,0	2,0	67,0
C ₁	67,0	29,0	Wegen Auftreten eines rotbrau- nen Störstoffes kein Meßergeb- nis möglich				173,0

Die Ergebnisse zeigen, daß die Haltbarkeit des Vitamins A in dem bei + 2° C gelagerten Eisschranköl erwartungsgemäß am größten war. Nach 178 Tagen waren immer noch 79% des zugefügten Vitamins analytisch zu bestimmen. Im Gegensatz dazu erfolgte der Abfall der Vitamin A-Konzentration durch besondere Lagerungsbedingungen in den 'belasteten' Ölproben sehr rasch. Nach 32 Tagen Lagerung waren hier nur mehr 17% (37° C gelagerte Ölprobe) respektive 29% (mit Luft durchperlte Ölprobe) Vitamin A vorhanden. Die Analysenergebnisse aus diesen Ölproben beweisen, daß schon während der ersten Lagerungswochen der vitaminisierten Öle, bei den Proben B₁ und C₁ eine starke Zerstörung des Vitamins stattgefunden hat. Eine weitere Verfolgung der Vitamin A-Abnahme in der mit Luft durchperlten Ölprobe konnte wegen Auftreten eines rotbraunen Störstoffes (offenbar Zersetzungsprodukte der Öle) in der Testlösung, zum Zeitpunkt der zweiten Kontrolle der Ölprobe, nicht mehr durchgeführt werden. Auch durch chromatographische Reinigung der Testlösung an Al₂O₃ gelang es nicht, den Störstoff zu entfernen. Es kann nicht mit Sicherheit entschieden werden, ob zu diesem Zeitpunkt noch Vitamin A in der Ölprobe vorhanden war. Der große Vitamin A-Verlust in den Ölproben B₁ und C₁, schon nach relativ kurzer Lagerungszeit, dürfte auf den hohen Verderbnisgrad dieser Öle bereits zum Zeitpunkt ihrer Vitaminierung zurückzuführen sein. (Vergl. Peroxydzahlen)

Die auffallend hohe Lea-Zahl der mit Luft durchperlten Ölprobe C₁ macht die frühzeitige Zerstörung des Vitamin A-Zusatzes hierin erklärlich.¹ Wie uns

Versuch I beweist, sind Vitamin A-Zusätze in "künstlich gealterten" Olivenölen mit angestiegenem Peroxydgehalt (Lea-Zahl) nur wenig stabil.

Versuch II:

Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit von Vitamin A in verschiedenartig gelagerten Olivenölen bei Verwendung von gebräuchlichen Antioxydantien (Ascorbylpalmitat und α -Tokopherol)

Dieser Versuch sollte Aufschluß geben, in welchem Ausmaß einige Antioxydantien im Stande sind, einen Abbau von Vitamin A in peroxydhaltigen Olivenölen zu verhindern oder zu verlangsamen. Analoge wie in Versuch I beschriebene Olivenölproben erhielten nach 128 Tagen Vorbehandlung neben Vitamin A (800 IE/g) Zusätze von Ascorbylpalmitat und α -Tokopherol als Antioxydantien in einer Konzentration von 0,05 %. Um aufschlußreiche Vergleichswerte zu erhalten, wurden die gleichgelagerten Olivenölproben der beiden Versuchsreihen in möglichst gleichen Zeitabständen auf ihren Vitamin A-Gehalt untersucht.

Die unterschiedlichen Lea-Zahlveränderungen bei den verschiedenartig vorbehandelten und gelagerten Ölproben sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle 3

Lea-Zahlen-Anstieg in verschiedenartig gelagerten Olivenölproben mit Zusätzen von Vitamin C-Palmitat bzw. α -Tokopherol.

L e a z a h l				L e a z a h l		
Lagerungsart d. Olivenöle	Beginn der Vorbehandlg.	Ende d. Vorbehandlg.	Vitaminierung der Olivenöle	Beginn der Lagerung	Ende der Lagerung (mit Ascorbylpalmitat-Zusatz)	Ende der Lagerung (mit α -Tokopherol-Zusatz)
Eis-schrank + 2° C	4 - 6	10,0	800 IE Vit. A/g	10,0	16,0	22,0
Thermo-staten + 37° C	4 - 6	43,0	800 IE Vit. A/g	43,0	54,0	56,0
Luft durchperlt	4 - 6	67,0	800 IE Vit. A/g	67,0	167,0	122,0

Aufarbeitung der Olivenölproben und Messung des Vitamin A-Gehalts erfolgte nach den beschriebenen Methoden.

Tabelle 4

A₂öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage im Eisschrank (+2° C)

Lagerung:

178 Tage im Eisschrank (+ 2° C)

+ 0,05 % Ascorbylpalmitat

B₂öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)

Lagerung:

178 Tage im Thermostaten (+ 37° C)

+ 0,05 % Ascorbylpalmitat

C₂öl - 800 IE Vit. A/g

Vorbehandlung:

128 Tage bei Zimmertemperaturen mit
Luft durchperlt

Lagerung:

178 Tage bei Zimmertemperaturen mit
Luft durchperlt

+ 0,05 % Ascorbylpalmitat

Ölproben	Lea-Zahlen- anstieg n. 128 Tagen Vorbehandlung	Vitamin A-Gehalt in Ölproben mit 0,05 % Ascorbylpalmitatzusatz in % nach Lagerungszeit in Tagen					Lea-Zahlen- anstieg nach Abschluß des Versuches (178 Tg.)
		35	72	102	147	178	
A ₂	10,0	72,0	67,0	65,0	64,0	62,0	16,0
B ₂	43,0	43,0	31,0	26,0	19,0	11,0	54,0
C ₂	67,0	36,0	Wegen Auftreten eines rotbraunen Störstoffes in der Testlösung kein Meßergebnis möglich				167,0

Tabelle 5

A ₃ Öl - 800 IE Vit. A/g	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
		+ 0,05 % α-Tokopherol
B ₃ Öl - 800 IE Vit. A/g	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
		+ 0,05 % α-Tokopherol
C ₃ Öl - 800 IE Vit. A/g	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
		+ 0,05 % α-Tokopherol

Ölproben	Lea-Zahlen- anstieg n. 128 Tagen Vorbehandl.	Vitamin A-Gehalt in Ölproben mit 0,05 % α-Tokopherolzusatz in % nach Lagerungszeit in Tagen					Lea-Zahlen- anstieg n. Abschluß des Versuches (178 Tg.)
		35	72	102	147	178	
A ₃	10,0	88,0	85,0	83,0	81,0	77,0	22,0
B ₃	43,0	40,0	35,0	34,0	32,0	31,0	56,0
C ₃	67,0	54,0	50,0	49,0	48,0	47,0	122,0

Die Ergebnisse aus diesen Versuchen veranschaulichen, daß von den verwendeten Antioxydantien nur das α-Tokopherol in der Lage ist, in erheblich peroxydhaltigen Olivenölen einen gewissen, wenn auch stetig abnehmenden Oxydationsschutz für das Vitamin A zu gewährleisten. Dagegen hat sich das Ascorbylpalmitat als Antioxydant unter den vorhandenen Versuchsbedingungen als unbrauchbar erwiesen. Das mit einem Zusatz von Ascorbylpalmitat versehene Eisschranköl A₂ zeigte auffallenderweise einen sogar um 17,0% höheren Abfall

der Vitamin A-Konzentration, wie das antioxydantienfreie Vergleichsöl A₁ des Versuches I. Eine brauchbare Erklärung für diese Erscheinung fehlt uns zur Zeit noch. Die erreichte Schutzwirkung des Ascorbylpalmitats ist mit 11,0 % wiedergefundener Vitamin A-Menge in der temperaturbelasteten Ölprobe B₂ nach einer Lagerungsdauer von 178 Tagen als sehr gering zu bezeichnen. Es sind zwar nach 35 Tagen Lagerung dieser Ölprobe noch 43,0 % (in der Vergleichsprobe B₁ des Versuches I 17%) des Vitamins A vorhanden, jedoch fällt die Konzentration innerhalb von 143 Tagen relativ schnell auf den gemessenen Wert von 11,0 % ab.

Eine weitere Bestimmung des Vitamin A-Gehaltes in der Ölprobe konnte nach der ersten Kontrolle dieser Probe nicht mehr durchgeführt werden, da im unverseifbaren Rückstand der folgenden Analysen bei der Farbreaktion des Vitamins A mit FeCl₃ bzw. Carr-Price Reagens ein rotbrauner Störstoff auftrat. Auch durch sorgfältige chromatographische Reinigung der Testlösung an Al₂O₃ konnte das Auftreten des Störstoffes bei der Farbreaktion nicht verhindert werden. Da auch die Lea-Zahl in der besagten Ölprobe C₂ sehr hoch angestiegen war, darf vermutet werden, daß zum Zeitpunkt der zweiten Kontrolle bereits kein Vitamin A mehr in dieser Ölprobe vorhanden war.

Der positive Effekt von α -Tokopherol auf die Haltbarkeit des Vitamins A ist dagegen in allen Versuchsölen bemerkenswert größer. Die bei 37° C im Thermostaten aufbewahrte Ölprobe B₃ enthielt nach 178 Tagen Lagerung um 29,0% der zugesetzten Vitamin A-Menge mehr als die entsprechende Vergleichsprobe B₁ ohne Tokopherolzusatz in Versuch I. Einen deutlichen Stabilisierungseffekt von α -Tokopherol, mit 31% wiedergefundener Vitamin A-Zusatzes nach 178 Tagen Lagerung, läßt die im Thermostaten gehaltene Ölprobe B₃ erkennen, im Vergleich zur ebenso gelagerten mit Ascorbylpalmitat versetzten Ölprobe E₂, bei etwa gleich hohem Lea-Zahlanstieg. Unerwartet hoch ist der Oxydationsschutz durch α -Tokopherol in der einer erhöhten O₂-Aufnahme ausgesetzten Ölprobe C₃. Trotz des sehr hohen Peroxydgehaltes dieser Probe konnten noch 47% Vitamin A bei Versuchsende aufgefunden werden.

Wenn auch in Olivenölen, deren Vitamin A-Gehalt nicht durch Zusätze von Antioxydantien geschützt war, die Vitaminverluste mit steigenden Lea-Zahlen in diesen ebenfalls regelmäßig ansteigen (s. Versuch I), so braucht andererseits, bei geeignetem Schutz durch Antioxydantien, mit einer sich erhöhenden Lea-Zahl nicht immer ein entsprechend hoher Vitaminverlust einhergehen.

In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß zwar der Vitamin A-Abfall in Gegenwart von α -Tokopherol deutlich während der Lagerungszeit der Ölproben

verzögert wird. Nicht dagegen schien das α -Tokopherol die Bildung von Peroxyden im Olivenöl selbst zu verzögern, vorausgesetzt, daß man tatsächlich die gleichsinnig ansteigenden Lea-Zahlwerte als einziges Kriterium einer verstärkten Peroxydbildung hier heranziehen darf.

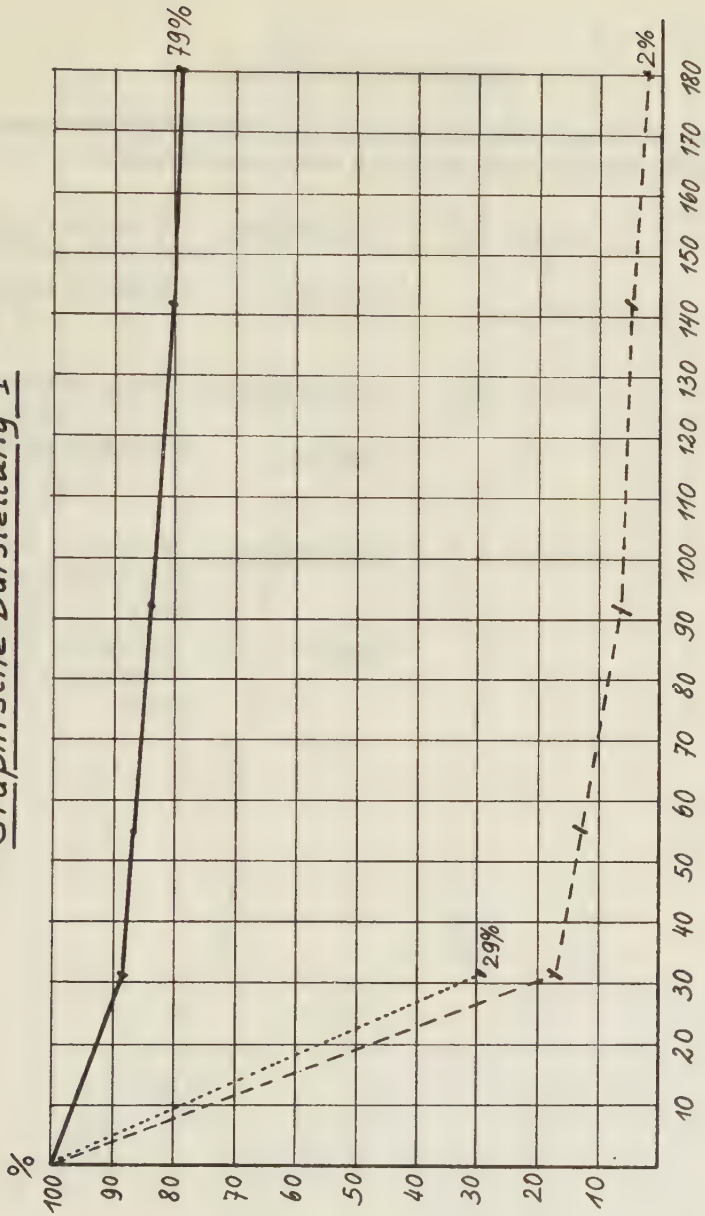
Verfolgt man die Vitaminverluste in den Ölproben, so fällt auf, daß diese während der ersten Lagerungswochen besonders groß sind; das weitere Absinken der Vitaminkonzentrationen, vor allem in den mit α -Tokopherol stabilisierten Ölproben, ist in der folgenden Zeit beträchtlich verzögert. Diese Erscheinung ist wohl darauf zurückzuführen, daß die verwendeten Antioxydantien offensichtlich nicht in der Lage sind, einen sofort wirksamen Stabilisierungseffekt auf das Vitamin A hervorzurufen, wenn zum Zeitpunkt der Vitaminierung der Ölproben diese bereits einen erheblichen Verderbnisgrad erreicht haben, was bei diesen Versuchen durch die Vorbehandlung der Ölproben erreicht wurde.

Graphische Darstellung I

Abnahme der Vitamin A-Konzentration in verschiedenartig vorbehandelten und gelagerten Olivenölproben ohne Zusatz von Antioxydantien.

_____ A ₁ Öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
		<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
----- B ₁ Öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
		<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
..... C ₁ Öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
		<u>Lagerung:</u>	178 Tage bei Zimmertemperatur mit Luft durchperlt.

Graphische Darstellung I

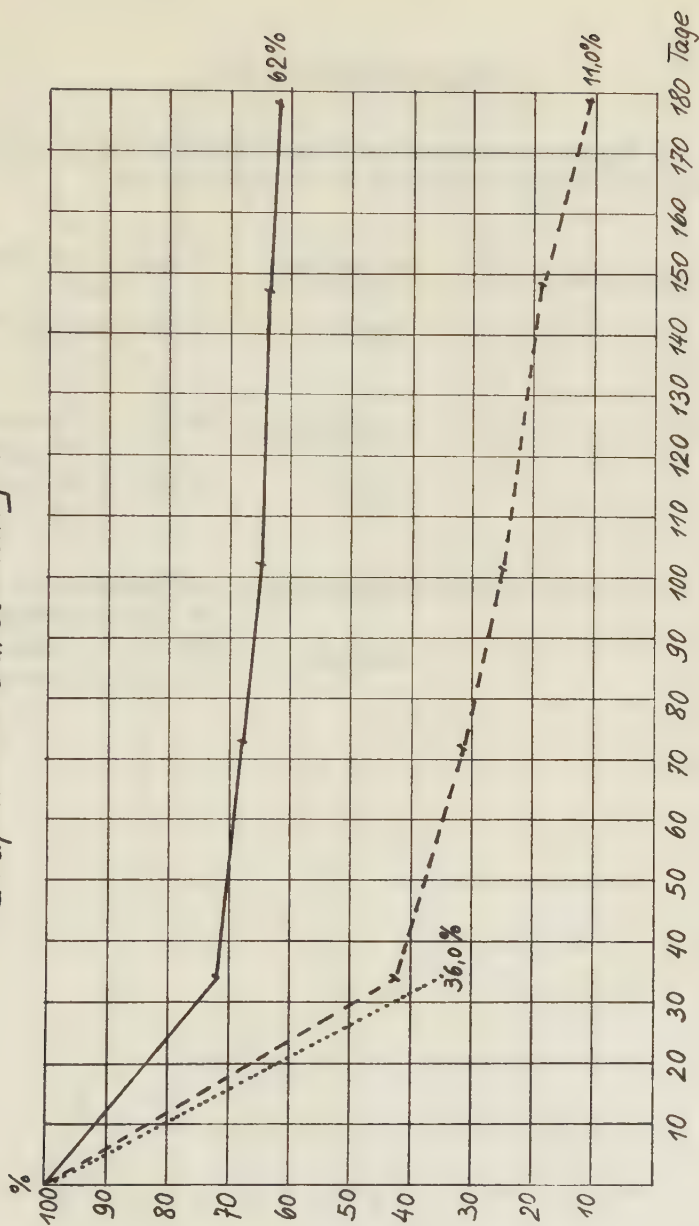


Graphische Darstellung II

Abnahme der Vitamin A-Konzentration in verschiedenartig vorbehandelten und gelagerten Olivenölproben mit 0,05 % Ascorbylpalmitat-Zusatz

_____ A ₂ Öl	- <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
----- B ₂ Öl	- <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
..... C ₂ Öl	- <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage bei Zimmertempe- raturen mit Luft durch- perlt
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage bei Zimmertempe- raturen mit Luft durch- perlt.

Graphische Darstellung II

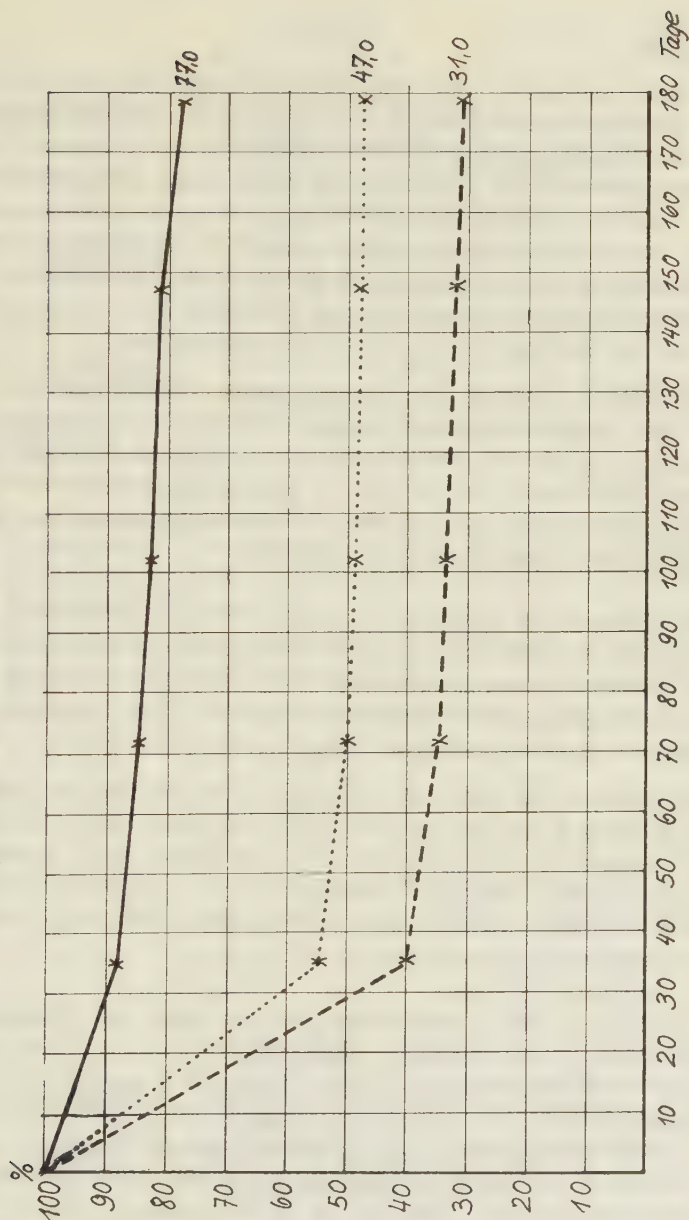


Graphische Darstellung III

Abnahme der Vitamin A-Konzentration in verschiedenartig vorbehandelten und gelagerten Olivenölproben mit 0,05% α -Tokopherol-Zusatz.

_____ A ₃ Öl	- <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Eisschrank (+ 2° C)
----- B ₃ Öl	- <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
..... C ₃ Öl	- <u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt
	<u>Lagerung:</u>	178 Tage bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlt.

Graphische Darstellung III



Versuch III:

Um ein noch besseres Bild über den Stabilisierungseffekt der in Versuch I und II verwendeten Antioxydantien zu erhalten, wurden weitere Ölproben denselben Vorbehandlungsbedingungen wie in Versuch I und II unterworfen. Nach der Vitaminierung dieser Ölproben wurden diese jedoch nicht, wie bei den Versuchen I und II, unter diesen Vorbehandlungsbedingungen belassen, sondern bei gewöhnlichen Zimmertemperaturen weitergelagert. Wie schon bei den Versuchen I und II wurde Oleum olivarum D.A.B.6 gleicher Provenienz verwendet. Die gemessenen Lea-Zahlwerte zwischen 4 und 6 errechneten sich mit einer Schwankung von $\pm 10\%$ aus dem Ergebnis von zwei Parallelbestimmungen.

- a) Zwei Ölproben (je Probe 100 g Ölmenge) wurden im Eisschrank bei $+ 2^{\circ} \text{C}$ 128 Tage vorbehandelt, anschließend mit 800 IE Vit. A/g versetzt und je eine Probe mit 0,05 % Ascorbylpalmitat bzw. 0,05 % α -Tokopherol stabilisiert. Eine ebenso vorbehandelte und vitaminisierte Ölprobe blieb frei von Antioxydantien. Vom Zeitpunkt der Vitaminierung an wurden die Proben unter gewöhnlichen Zimmertemperaturen aufbewahrt.
- b) Zwei Ölproben, (je Probe 100 g Ölmenge) 128 Tage im Thermostaten vorbehandelt, erhielten 800 IE Vit. A/g und einen Zusatz von 0,05 % Ascorbylpalmitat bzw. α -Tokopherol. Diese Ölproben wurden anschließend wie bei a) unter gewöhnlichen Zimmertemperaturen aufbewahrt. Eine vitaminisierte Ölprobe blieb bei gleichen Lagerungsbedingungen antioxydantienfrei.
- c) Zwei Ölproben, (je Probe 100 g Ölmenge) welche 128 Tage mit Luft durchperlt waren, erhielten neben 800 IE Vit. A/g einen Zusatz von ebenfalls 0,05 % Ascorbylpalmitat bzw. 0,05 % α -Tokopherol. Diese Ölproben wurden wie bei a) und b) nach der Vorbehandlung unter gewöhnlichen Zimmertemperaturen aufbewahrt. Eine Ölprobe gleicher Lagerungsbedingungen erhielt keinen Zusatz von Antioxydantien.

Alle unter a), b) und c) aufgeführten Ölproben wurden über einen Zeitraum von ca. 6 Monaten auf ihren Gehalt an Vitamin A untersucht. Die einzelnen Vitamin A-Analysen erfolgten nach 35, 72, 103, 148 und 175 Tagen mittels der schon beschriebenen Methoden. Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen 6, 7 und 8 zusammengefaßt. Wie bei den Versuchen I und II, so wurden auch bei diesen Ölproben zu Beginn der Lagerung und nach Abschluß der Versuche (175 Tage) die Lea-Zahlen bestimmt. Diese sind in den nachstehenden Tabellen eingetragen.

Tabelle 6

D_1 Öl	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C) + 800 IE Vit. A/g
	<u>Lagerung:</u>	Bei Zimmertemperaturen (175 Tg.) (ohne Antioxydantien-Zusatz)
D_2 Öl	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C) + 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Ascorbylpalmitat
	<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
D_3 Öl	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank (+ 2° C) + 800 IE Vit. A/g + 0,05 % α -Tokopherol
	<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)

Ölproben	Lea-Zahlen nach 128 Tg. Vorbehandlg.	Vitamin A-Stabilität in (2° C vor- behandelten) Olivenölproben b.Zi. Temp. in % des theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungs- zeit in Tagen					Lea-Zahlen nach Ab- schluß des Versuches (175 Tage)
		35	72	103	148	175	
D_1	10,0	87,0	77,0	74,0	71,0	69,0	35,0
D_2	10,0	62,0	60,0	57,0	55,0	52,0	26,0
D_3	10,0	89,0	84,0	78,0	76,0	73,0	38,0

Tabelle 7

E_1 Öl	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Thermostaten (+ 37° C) + 800 IE Vit. A/g
	<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.) (ohne Antioxydantienzusatz)

- E_2 öl - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
+ 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Ascorbylpalmitat
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
- E_3 öl - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
+ 800 IE Vit. A/g + 0,05 % α -Tokopherol
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)

Ölproben	Lea-Zahlen nach 128 Tg. Vorbehand- lung	Vitamin A-Stabilität in (+ 37° C vorbehandelten) Olivenölproben b. Zi.Temp. in % d. theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungs- zeit in Tagen					Lea-Zahlen n.Abschluß d.Versuches (175 Tage)
		35	72	103	148	175	
E_1	43,0	37,0	14,0	11,0	10,0	7,0	63,0
E_2	43,0	31,0	25,0	24,0	20,0	18,0	52,0
E_3	43,0	50,0	46,0	44,0	42,0	40,0	54,0

Tabelle 8

- F_1 öl - Vorbehandlung: 128 Tage mit Luft durchperlt
+ 800 IE Vit. A/g
Lagerung: bei Zimmertemperaturen
(ohne Antioxydantienzusatz) (175 Tg.)
- F_2 öl - Vorbehandlung: 128 Tage mit Luft durchperlt
+ 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Ascorbylpalmitat
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
- F_3 öl - Vorbehandlung: 128 Tage mit Luft durchperlt
+ 800 IE Vit. A/g + 0,05 % α -Tokopherol
Lagerung: bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)

Ölproben	Lea-Zahlen nach 128 Tagen Vor- behandlung	Vitamin A-Stabilität in (luft- sauerstoff durchperlten) Oli- venölproben b.Zi.Temp. in % d. theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungszeit in Tagen					Lea-Zahlen nach Ab- schluß des Versuches (175 Tg.)
		35	72	103	148	175	
F ₁	67,0	44,0	36,0	29,0	26,0	24,0	95,0
F ₂	67,0	43,0	31,0	25,0	22,0	21,0	93,0
F ₃	67,0	58,0	56,0	54,0	53,0	50,0	98,0

Vergleicht man die Ergebnisse der Vitamin A-Analysen der bei + 2° C im Eisschrank vorbehandelten und anschließend bei Zimmertemperaturen gelagerten Ölproben dieses Versuches mit denen der dauergelagerten Eisschrank-Ölproben, in den Versuchen I und II, so zeigt sich, daß der Vitamin A-Gehalt bei der ersten Kontrolle in den verglichenen Ölproben noch annähernd gleich groß war. Mit zunehmender Lagerungsdauer treten erwartungsgemäß in den bei Zimmertemperaturen gelagerten Ölproben höhere Vitaminverluste auf, als bei den entsprechenden, im Eisschrank (2° C) dauergelagerten Ölproben der Versuche I und II (s. Tab. 2, 4 und 5).

Die mit α -Tokopherol stabilisierten, eisschrankgelagerten Ölproben A₃ Tab. 5 und D₃ Tab. 6 zeigen eine starke Annäherung der Vitaminverluste bei ihrer letzten Kontrolle. Bei den antioxydantienfreien Eisschrank-Ölproben hingegen verliert die bei Zimmertemperaturen weitergelagerte Ölprobe D₁ Tab. 6 etwa 10 % mehr an Vitamin A gegenüber der Ölprobe A₁ Tab. 2 (im Eisschrank dauergelagerte Probe). Ebenfalls 10% weniger Vitamin A konnten in der mit Ascorbylpalmitat versetzten Ölprobe D₂ Tab. 6 gegenüber der ebenso stabilisierten dauergelagerten Eisschrankprobe A₂ Tab. 4 nachgewiesen werden.

Es zeigt sich also, daß infolge einer Erhöhung der Lagerungstemperatur, (Zimmertemperatur-Lagerung) bei den zuerst im Eisschrank vorbehandelten Ölproben dieses Versuches, schneller ansteigende Vitaminverluste eintreten als in den dauergelagerten Eisschrankölproben der Versuche I und II (vgl.

auch Lea-Zahlen). Die Vitaminverluste der bei Zimmertemperaturen weitergelagerten Ölproben übersteigen jedoch diejenigen der dauergelagerten Eisschranksproben A₁ Tab. 2, A₂ Tab. 4 und A₃ Tab. 5 nach Abschluß der Untersuchungen nicht um mehr als 10%.

Beachtlich ist, daß trotz der auf 38,0 angestiegenen Lea-Zahl der mit einem α -Tokopherol-Zusatz versehenen, im Eisschrank vorbehandelten und anschließend bei Zimmertemperaturen gelagerten Ölprobe D₃ Tab. 6 die Vitaminkonzentration am höchsten liegt, verglichen mit der ebenso gelagerten, aber mit Ascorbylpalmitat stabilisierten Ölproben D₂ Tab. 6, bei einer Lea-Zahl von nur 26,0. Der schon mehrfach beobachtete unterschiedliche Stabilisierungseffekt auf das Vit. A von α -Tokopherol und Ascorbylpalmitat tritt hier zu Gunsten des α -Tokopherols ganz deutlich hervor.

Die im Thermostaten (37° C) vorbehandelten und nach ihrer Vitaminierung unter Zimmertemperatur aufbewahrten Ölproben dieses Versuches III enthalten nach Abschluß der Untersuchungen, im Vergleich zu den bei 37° C dauergelagerten Ölproben der Versuche I und II (Tab. 2, 4 und 5), bei den sich entsprechenden Proben geringgradig höhere Vitamin A-Konzentrationen.

Diese betragen bei E₁ Tab. 7 um 5,0 % mehr als B₁ Tab. 2
bei E₂ Tab. 7 um 7,0 % mehr als B₂ Tab. 4
bei E₃ Tab. 7 um 9,0 % mehr als B₃ Tab. 5

Daraus folgt, daß durch eine Erniedrigung der Aufbewahrungstemperatur vom Zeitpunkt der Vitaminierung an, bei diesen zunächst unter relativ hohen Temperaturen (37° C im Thermostaten) vorbehandelten Ölproben des Versuches III, keine auffallende Verzögerung der Vitamin A-Verluste gegenüber den bei 37° C dauergelagerten Ölproben in den Versuchen I und II eingetreten ist. Es kann angenommen werden, daß die im Zeitraum der Vorbehandlung, also vor einer Senkung der Lagerungstemperaturen, in den besagten Ölproben bereits gebildeten Verderbstoffe (s. Lea-Zahlen) eine Schutzwirkung der zugesetzten Antioxydantien weitgehend herabsetzen. Auch bei diesen Ölproben findet der Vitamin A-Abfall vorwiegend während der ersten Lagerungswochen statt. (s. graphische Darstellung IV, V und VI).

Von den Luft durchperlten, nach ihrer Vitaminierung unter Zimmertemperaturen weitergelagerten Olivenölproben des Versuches III, unterscheiden sich insbesondere die Proben F₁ und F₂ (Tab. 8) in ihrem Vitamingehalt von den entsprechenden dauerdurchperlten Ölproben C₁ und C₂ der Versuche I und II ganz er-

heblich. So waren in Ölprobe F_1 (ohne Antioxydantien-Zusatz) und F_2 (mit Ascorbylpalmitat-Zusatz) nach Untersuchungsabschluß 24,0 bzw. 21,0 % des zugesetzten Vitamins A noch aufzufinden, während in den dauerdurchperlten Vergleichsproben C_1 Tab. 2 und C_2 Tab. 4 überhaupt kein Vitamin A bei der letzten Untersuchung mehr gemessen werden konnte.

Aus den Untersuchungsergebnissen dieser Vergleichsproben kann man den Schluß ziehen, daß, vom Zeitpunkt der Zimmertemperaturlagerung an, in den Ölproben F_1 und F_2 die Verderbprozesse der Öle und damit die Zerstörung des Vitamins A verzögert wurde. Auch die niedrigeren Lea-Zahlen dieser Ölproben unterstützen diese Annahme.

Der bei Lagerungsende aus der mit α -Tokopherol stabilisierten Ölprobe F_3 (Tab. 8) analysierte Vitamin A-Gehalt betrug 50 % der zugesetzten Menge. Nur um 3% niedriger (47 %) nach gleicher Lagerungsdauer war der analysierte Vitamin A-Gehalt in der ebenso stabilisierten, dauerdurchperlten Vergleichsprobe C_3 (Tab. 5). Trotz des höheren Verderbnisgrades der dauerdurchperlten Ölprobe C_3 wurde also vermutlich infolge des Stabilisierungseffektes durch das α -Tokopherol eine fast gleich große Menge Vitamin A wie in Ölprobe F_3 (Tab. 8), mit der erheblich niedrigeren Lea-Zahl 98, analysiert. Dieser Vergleich veranschaulicht, daß bei einer Steigerung des Ölverderbs die Vitamin-Verluste in Gegenwart von α -Tokopherol nicht proportional den angestiegenen Lea-Zahlen verlaufen müssen.

C. Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse der Versuche I, II, III

Aus den Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß in allen vorbehandelten und daher mehr oder weniger peroxydhaltigen Olivenölproben, auch bei Zusätzen von Antioxydantien, eine teilweise erhebliche Zerstörung des nachträglich zugesetzten Vitamins A stattgefunden hat. Dabei zeigte sich, daß eine unterschiedliche Vorbehandlung, respektive Lagerung der vitaminisierten Ölproben die Höhe des Peroxydgehaltes in diesen, sowie die Stabilisierungseigenschaften der verschiedenartigen Antioxydantien die Haltbarkeit eines Vitamin A-Zusatzes in Olivenölen maßgeblich beeinflussen.

Von den verwendeten Antioxydantien, Vitamin C-Palmitat und α -Tokopherol, war unter den gegebenen Versuchsbedingungen nur das α -Tokopherol geeignet, eine gewisse Stabilität für das Vitamin A in den peroxydhaltigen Olivenölen zu gewährleisten.

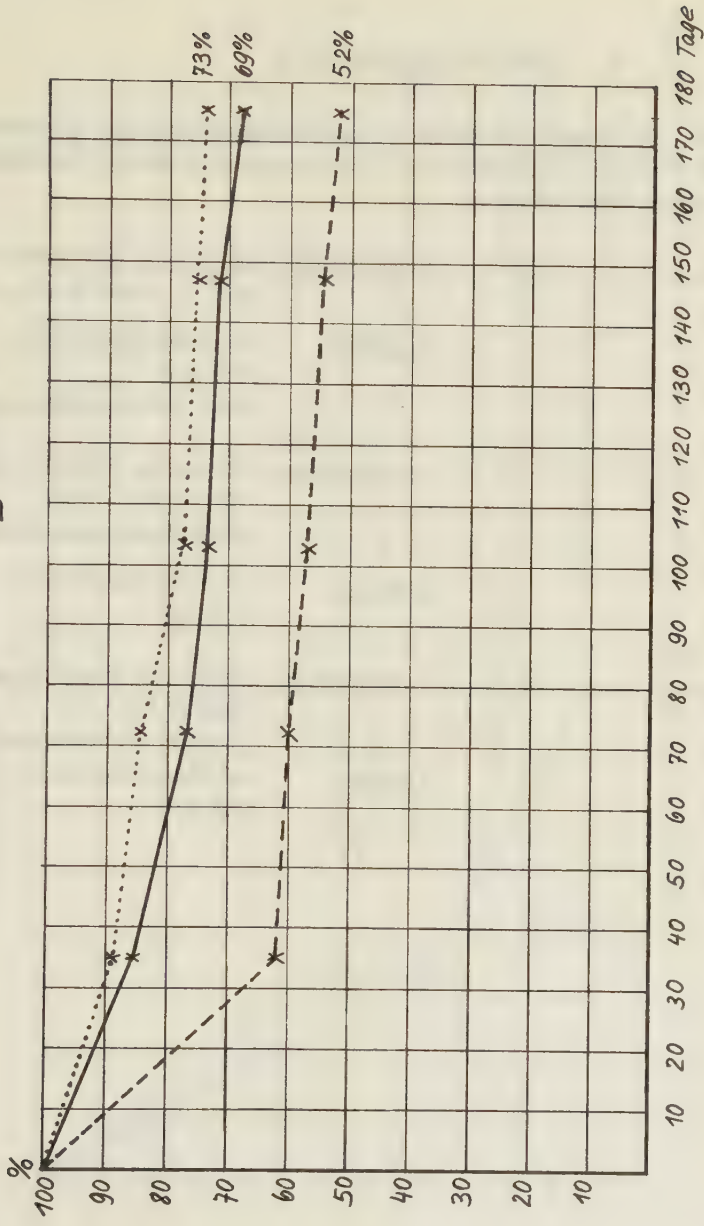
Da bei diesen Versuchen nur der Peroxydgehalt der Öle zu den Vitamin A-Verlusten in Beziehung gebracht wurde, läßt sich keinesfalls mit Sicherheit entscheiden, ob nicht auch andere bei den Verderbprozessen in den Olivenölen entstehende Verbindungen, die in der analytisch ermittelten Lea-Zahl nicht zum Ausdruck kommen, für die teilweise weitgehende Zerstörung des Vitamins A mitverantwortlich sind.

Graphische Darstellung IV

Abnahme des Vitamin A-Gehaltes in vorbehandelten (128 Tage im Eisschrank bei $+ 2^{\circ}\text{C}$) Olivenölproben bei Zimmertemperaturen und bei Verwendung verschiedener Antioxydantien.

_____	D ₁ Öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank ($+ 2^{\circ}\text{C}$) + 800 IE Vit. A/g
			<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (ohne Antioxydanzusatz)
-----	D ₂ Öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank ($+ 2^{\circ}\text{C}$) + 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Ascorbylpalmitat
			<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
.....	D ₃ Öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage im Eisschrank ($+ 2^{\circ}\text{C}$) + 800 IE Vit. A/g + 0,05 % α -Tokopherol
			<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)

Graphische Darstellung IV

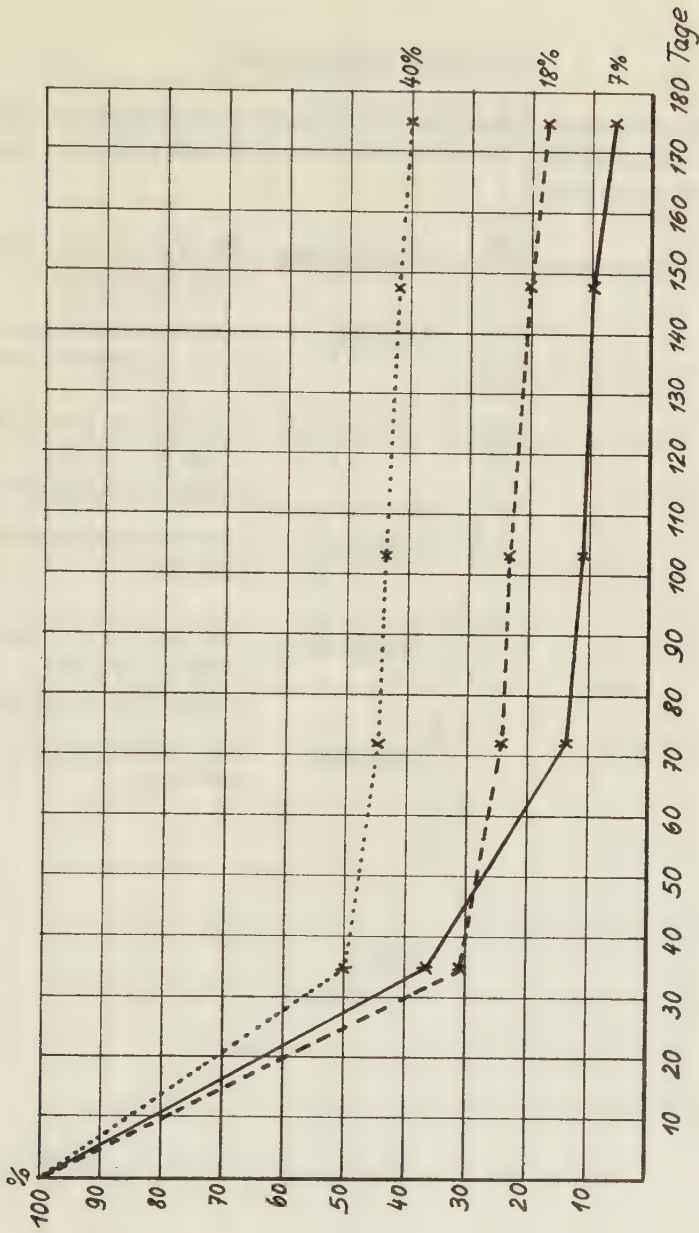


Graphische Darstellung V

Abnahme des Vitamin A-Gehaltes in vorbehandelten (128 Tage im Thermostaten bei + 37° C) Olivenölproben bei Zimmertemperaturen und bei Verwendung verschiedener Antioxydantien.

- _____ E₁Öl - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten
(+37° C) + 800 IE Vit. A/g
- Lagerung: bei Zimmertemperaturen
(175 Tg.)
(ohne Antioxydantienzusatz)
- E₂Öl - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten (+ 37° C)
+ 800 IE Vit. A/g
+ 0,05 % Ascorbylpalmitat
- Lagerung: bei Zimmertemperaturen
(175 Tg.)
- E₃Öl - Vorbehandlung: 128 Tage im Thermostaten (+37° C)
+ 800 IE Vit. A/g
+ 0,05 % α -Tokopherol
- Lagerung: bei Zimmertemperaturen
(175 Tg.)

Graphische Darstellung V

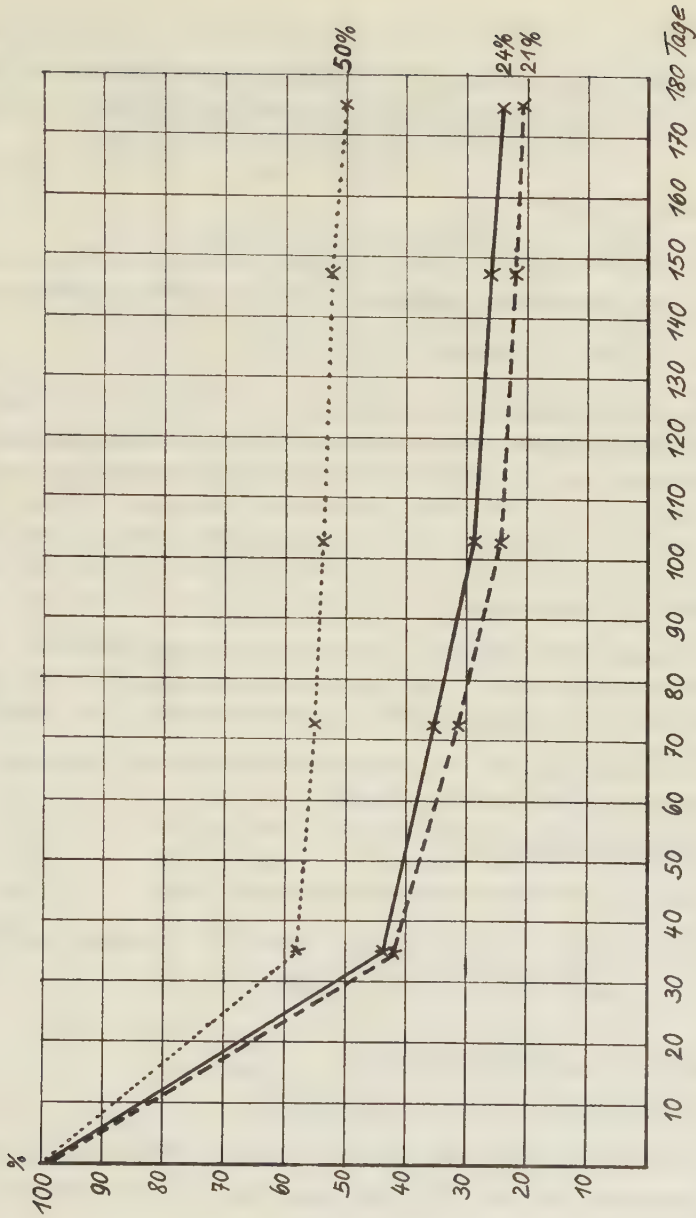


Graphische Darstellung VI

Abnahme des Vitamin A-Gehaltes in vorbehandelten (128 Tage mit Luft durchperlt) Olivenölproben bei Zimmertemperaturen und bei Verwendung verschiedener Antioxydantien.

_____ F ₁ öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage mit Luft durchperlt + 800 IE Vit. A/g
		<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.) (ohne Antioxydanzusatz)
----- F ₂ öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage mit Luft durchperlt + 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Ascorbylpalmitat
		<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)
..... F ₃ öl	-	<u>Vorbehandlung:</u>	128 Tage mit Luft durchperlt + 800 IE Vit. A/g + 0,05 % α -Tokopherol
		<u>Lagerung:</u>	bei Zimmertemperaturen (175 Tg.)

Graphische Darstellung VI



Versuch IV:

Vergleichende Untersuchungen über die Stabilität von Vitamin A in frischem Olivenöl (D.A.B.6) bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen und bei Verwendung verschiedener neuartiger Antioxydantien

Verwendete Antioxydantien:

1. 2,6-di-tertiärbutyl-4-methylphenol (= B.H.T.)
2. Natürliches Antioxydantien-Gemisch (Fa. Hoffmann-La Roche)
3. Diphenyl-p-phenylendiamin (D.PP.D.)

Für die Untersuchungen wurden dreimal je drei Proben 100 g frisches Olivenöl gleicher Provenienz, deren Peroxydgehalt sich mit Hilfe der jodometrischen Titration nach LEA zwischen 4 und 6 errechnete, angesetzt. Eine Vorlagerung der Ölproben, wie bei den vorher beschriebenen Versuchen, erfolgte nicht. Sämtliche 9 Olivenölproben wurden zuerst mit 800 IE Vit. A/g (Vit.A-Acetat) versetzt. Die vitaminisierten Olivenölproben erhielten gleichzeitig folgende Zusätze an Antioxydantien:

- | | | |
|----------------------|------------------------------------|-------------------------|
| 3 Ölproben je 0,05 % | 2,6-di-tertiärbutyl-4-methylphenol | |
| 3 Ölproben je 0,05 % | natürliches Antioxydantien-Gemisch | (Fa. Hoffmann-La Roche) |
| 3 Ölproben je 0,05 % | Diphenyl-p-phenylendiamin. | |

Die so vitaminisierten und mit Zusätzen von Antioxydantien versehenen Olivenölproben wurden folgendermaßen gelagert:

G - Lagerung im Eisschrank (+ 2° C)

- g_1 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
 g_2 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürliches Antioxydantien-Gemisch
 g_3 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.

H - Lagerung im Thermostaten (37° C)

- h_1 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
 h_2 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürliches Antioxydantien-Gemisch
 h_3 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.

I - Durchperlen mit Luftsauerstoff bei Zimmertemperaturen

i_1 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.

i_2 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürliches Antioxydantien-Gemisch

i_3 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.

Sämtliche Olivenölproben wurden bei einer Lagerungsdauer von 200 Tagen mittels der schon beschriebenen Methoden in gewissen Zeitabständen auf ihren Vitamin A-Gehalt untersucht. Die Untersuchungen erfolgten nach 18, 49, 79, 108, 139, 169 und 200 Tagen, also etwa in Intervallen von 30 Tagen. Nach Untersuchungsabschluß wurde bei sämtlichen Olivenölproben eine Lea-Zahlbestimmung durchgeführt. Über die Ergebnisse berichten die folgenden Tabellen:

Eine Störexinktion des D.P.P.D. mit dem hier verwendeten FeCl_3 Reagens mußte bei der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Tabelle 9

g_1 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T. Lagerung im Eisschrank (+ 2°C)

h_1 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T. Lagerung im Thermostaten
(+ 37°C)

i_1 - Ölprobe 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T. Lagerung mit Luft durchperlt
bei Zi. Temperaturen

Öle	Lea-Zahlen b. Lagerungs- beginn	Vitamin-A-Geh. in Olivenölproben mit 0,05% B.H.T.-Zusatz in % des theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungszeit in Tagen							Lea-Zahl. n. 200 Tagen Lagerung
		18	49	79	108	139	169	200	
g_1	4 - 6	98,0	96,0	94,0	93,0	93,0	92,0	91,0	15,0
h_1	4 - 6	95,0	89,0	85,0	79,0	75,0	69,0	62,0	26,0
i_1	4 - 6	95,0	88,0	83,0	75,0	66,0	54,0	48,0	81,0

Tabelle 10

- g₂ Ölprobe - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: im Eisschrank (+ 2° C)
- h₂ Ölprobe - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: im Thermostaten (37° C)
- i₂ Ölprobe - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
Lagerung: mit Luft durchperlt
bei Zimmertemperaturen

Öle	Lea-Zahlen bei Lage- rungsbe- ginn	Vitamin A-Gehalt in Olivenölproben mit 0,05 % Antioxydantien-Gemisch-Zusatz in % des theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungszeit in Tagen							Lea-Zahl. nach 200 Tg. Lagerung
		18	49	79	108	139	169	200	
g ₂	4 - 6	98,0	96,0	94,0	94,0	93,0	91,0	90,0	16,0
h ₂	4 - 6	94,0	89,0	81,0	74,0	67,0	61,0	52,0	26,0
i ₂	4 - 6	93,0	89,0	79,0	68,0	51,0	33,0	infolge Störstoff kein Meß- ergebnis möglich	453,0

Tabelle 11

- g₃ Ölprobe - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.
Lagerung: im Eisschrank (+ 2° C)
- h₃ Ölprobe - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.
Lagerung: im Thermostaten (37° C)
- i₃ Ölprobe - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.
Lagerung: Luft durchperlt bei Zimmer-
temperaturen.

Öle	Lea-Zahlen bei Lagerungs- beginn	Vitamin A-Gehalt in Olivenölproben mit 0,05 % D.P.P.D.-Zusatz in % des theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungszeit in Tagen							Lea-Zahl. nach 200 Tg. Lagerung
		18	49	79	108	139	169	200	
g ₃	4 - 6	93,0	90,0	87,0	83,0	80,0	76,0	75,0	17,0
h ₃	4 - 6	88,0	84,0	81,0	78,0	74,0	71,0	66,0	22,0
i ₃	4 - 6	87,0	83,0	81,0	74,0	66,0	58,0	46,0	49,0

Vergleicht man die Vitamin A-Stabilität der mit einem Zusatz von B.H.T. versehenen Ölproben in Tab. 9 untereinander, so zeigt sich, daß diese in der Eisschrank-Ölprobe erwartungsgemäß am größten war; es konnten nach 200 Tagen Lagerungszeit noch 91,0 % der anfänglich eingemischten Vitamin A-Menge bestimmt werden. Dies entspricht in Anbetracht der bei den Aufarbeitungsprozessen der Öle eintretenden unvermeidlichen Vitamin-Verluste (bis zu 10%) praktisch einer völligen Stabilität. Die Vitamin-Verluste in den gleichfalls mit B.H.T. versetzten Ölproben h₁ und i₁ sind beträchtlich höher. Sie betragen am Ende der Lagerungszeit 38% bei der im Thermostaten gelagerten Ölprobe. Für die Luft-durchperlte Probe errechneten sich 52% Vitamin A-Verlust nach der gleichen Lagerungsdauer.

Eine direkte proportionale Beziehung zwischen dem Anstieg der Lea-Zahl in einer Olivenölprobe und einer parallel verlaufenden Vitamin A-Zerstörung ist nicht herzustellen. Vergleicht man nämlich in Ölprobe g₁ (im Eisschrank gelagert) die bei Lagerungsende analysierte Lea-Zahl von 15,0 bei einem Vitamin A-Verlust von 8,0% mit den entsprechenden Werten der Proben h₁ (Lea-Zahl 26,0; Vitamin A-Verlust 38,0 %) und i₁, (Lea-Zahl 81,0; Vitamin A-Verlust 52%) so stellt man fest, daß der Vitaminverlust der Ölproben h₁ und i₁ im Hinblick auf die analysierten Lea-Zahlen relativ größer ist als derjenige in Ölprobe g₁. Vermutlich ist zwar B.H.T. in der Lage, die Peroxydbildung in den Ölproben zu verzögern, nicht aber, zumindest im Bereich der gemessenen Peroxyd-Zahlen, einen gleichartigen Oxydationsschutz für das Vitamin A zu gewährleisten.

Von den mit einem natürlichen Antioxydantien-Gemisch versetzten Ölproben g₂,

h_2 , i_2 (Tab. 10) enthält die im Eisschrank gelagerte Probe g_2 nach 200 Tagen Lagerungszeit erwartungsgemäß die höchste Vitamin A-Konzentration. Dagegen weisen die unter besonderen Lagerungsbedingungen stehenden Ölproben h_2 und i_2 mit zunehmender Lagerungsdauer erheblich ansteigende Vitaminverluste auf. So sind bei Ölprobe h_2 nur mehr 52,0% Vitamin A nach 200 Tagen Lagerungsdauer vorhanden. Nach der gleichen Zeit konnte in Ölprobe i_2 (Luftdurchperlt) wegen Auftretens eines rotbraunen Störstoffes im unverseifbaren Rückstand, der auch mit Hilfe der chromatographischen Reinigung an Al_2O_3 nicht abgetrennt werden konnte, kein Vitamin A mehr analysiert werden. Der außerordentlich hoch angestiegene Peroxydgehalt dieser Ölprobe (Lea-Zahl 453) läßt vermuten, daß zum Zeitpunkt der letzten Kontrolle dieser Probe kein Vitamin A mehr vorhanden war.

Vergleicht man nun die Untersuchungsergebnisse der mit B.H.T.-Zusatz versehenen Ölproben der Tabelle 9 mit den Ergebnissen aus den Ölproben der Tabelle 10 (Zusatz von natürlichem Antioxydantiengemisch) so ist festzustellen, daß bei den gleich gelagerten Ölproben, insbesondere zwischen i_1 und i_2 , unterschiedliche Vitamin-Verluste auftraten. Bei diesen mit Luftsauerstoff durchperlten Ölproben enthält die mit einem Zusatz von B.H.T. versehene Probe i_1 nach Lagerungsabschluß noch 48,0 % Vitamin A, während in der Vergleichsprobe i_2 (mit Antioxydantiengemisch-Zusatz) zum gleichen Zeitpunkt kein Vitamin A mehr zu bestimmen war.

Wie man aus diesem Ergebnis schließen darf, übt das natürliche Antioxydantien-Gemisch bei den mit Luft durchperlten Ölproben einen erheblich geringeren Stabilisierungseffekt als B.H.T. auf das Vitamin A aus. Vor allem scheint es nicht befähigt zu sein, den beschleunigten Verderbvorgang in dieser, einer massiven Sauerstoffaufnahme ausgesetzten Ölprobe i_2 wesentlich zu verzögern (siehe auch Lea-Zahl 453).

Auch bei den mit D.P.P.D. stabilisierten Ölproben (Tab. 11) enthielt die eisschrankgelagerte Probe g_3 , wie erwartet, die noch höchste Vitaminkonzentration bei der letzten Vitamin A-Analyse (75 %) nach 200 Tagen Lagerung. Demgegenüber beträgt erstaunlicherweise der Vitamin A-Verlust der unter besonders erschwerten Bedingungen gelagerten Ölprobe h_3 (Lagerung bei 37° C) 34,0 %, also nur 9,0 % mehr als derjenige der Eisschrank-Ölprobe g_3 . Am geringsten, mit nur 46,0 % analysierten Vitamin A der Ausgangskonzentration, ist die Haltbarkeit des Vitamins A in der mit Luft durchperlten Ölprobe i_3 . Der Vitamin A-Verlust in Ölprobe g_3 (mit D.P.P.D. versetzt) liegt gegenüber den Vergleichsproben g_1 und g_2 (Tabellen 9 und 10) um 17,0 % bzw. 15,0 % hö-

her. Dagegen scheint der Stabilisierungseffekt von D.PP.D. in Ölprobe h_3 und i_3 etwa annähernd so groß zu sein, wie derjenige von B.H.T. in den gleichgelagerten Ölproben h_1 und i_1 , Tabelle 9. Unterschiedliche Vitamin A-Verluste ergeben sich auch bei den Ölproben h_3 und i_3 gegenüber den ebenso gelagerten Proben h_2 , i_2 . Diese Verlustunterschiede zeigen sich besonders deutlich bei den mit Luft durchperlten Ölproben i_2 (Tab. 10) und i_3 (Tab. 11). Während am Ende der festgesetzten Lagerungszeit in Ölprobe i_3 noch 46,0 % Vitamin A nachweisbar waren, konnte nach gleicher Lagerungsdauer bei Ölprobe i_2 infolge eines rotbraunen Störstoffes der bei der Farbreaktion des Vitamins i_2 auftrat und der auch bei diesem Versuch durch Reinigung an Al_2O_3 nicht zu trennen war, kein Vitamin A mehr analysiert werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse des Versuches IV

Die Versuchsergebnisse beweisen, daß die verwendeten Antioxydantien bei gleicher Lagerung der Ölproben zum Teil außerordentlich unterschiedliche Stabilisierungseffekte auf das Vitamin A ausüben. Bei allen im Eisschrank gelagerten Olivenölproben blieb der Vitamin A-Zusatz im Untersuchungszeitraum weitgehend erhalten. Indessen treten bei allen Ölproben, die unter erschwerten Bedingungen gelagert waren, erhebliche Vitaminverluste auf. Die Antioxydantien B.H.T. und D.PP.D. sind als Vitamin A-Stabilisatoren unter den gegebenen Versuchsbedingungen als gleichwertig brauchbar zu bezeichnen, wenn auch ihre Schutzwirkung bei den "belasteten Ölproben" nicht ganz befriedigt.

Einen bemerkenswerten Stabilisierungseffekt auf das Vitamin A zeigt dagegen das natürliche Antioxydantien-Gemisch nur bei der im Thermostaten gelagerten Ölprobe. Darüber hinaus ist es offenbar weniger befähigt, eine Verzögerung der Ölverschlechterung herbeizuführen als die Antioxydantien B.H.T. und D.PP.D.. Man darf deshalb den Schluß ziehen, daß es den Antioxydantien B.H.T. und D.PP.D. in seiner Wirkung als Vitamin A-Stabilisator ganz erheblich nachsteht.

Graphische Darstellung VII

Abfall der Vitamin A-Konzentration in 'frischen' Olivenölproben bei Lagerung im Thermostaten (+ 37° C) und bei Verwendung verschiedenartiger Antioxydantien.

_____ h₁öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.

Lagerung: im Thermostaten (+ 37° C)

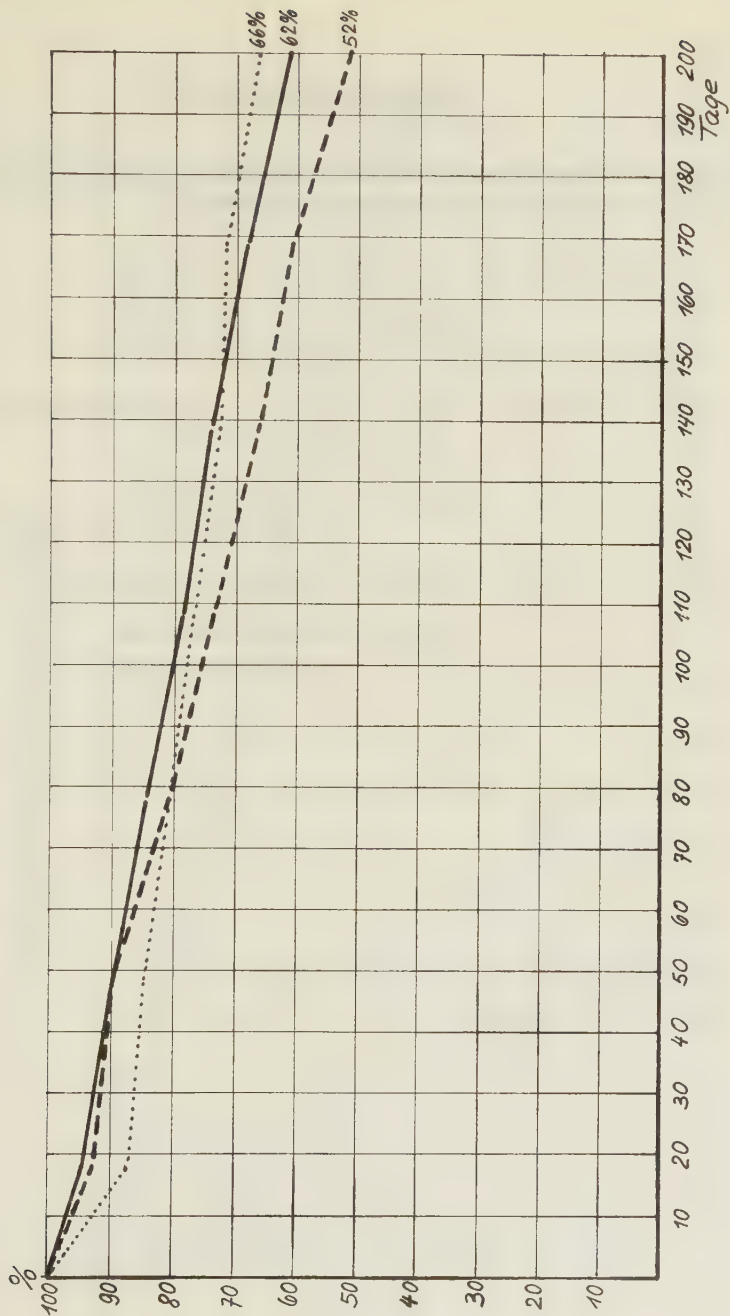
----- h₂öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Antioxydantiengemisch

Lagerung: im Thermostaten (+ 37° C)

..... h₃öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.

Lagerung: im Thermostaten (+ 37° C)

Graphische Darstellung VII



Graphische Darstellung VIII

Abfall der Vitamin A-Konzentration in 'frischen', mit Luftsauerstoff-durch-perlten Olivenölproben bei Verwendung verschiedenartiger Antioxydantien.

_____ $i_1 \ddot{O}l$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.

Lagerung: mit Luft durchperlt
bei Zimmertemperaturen

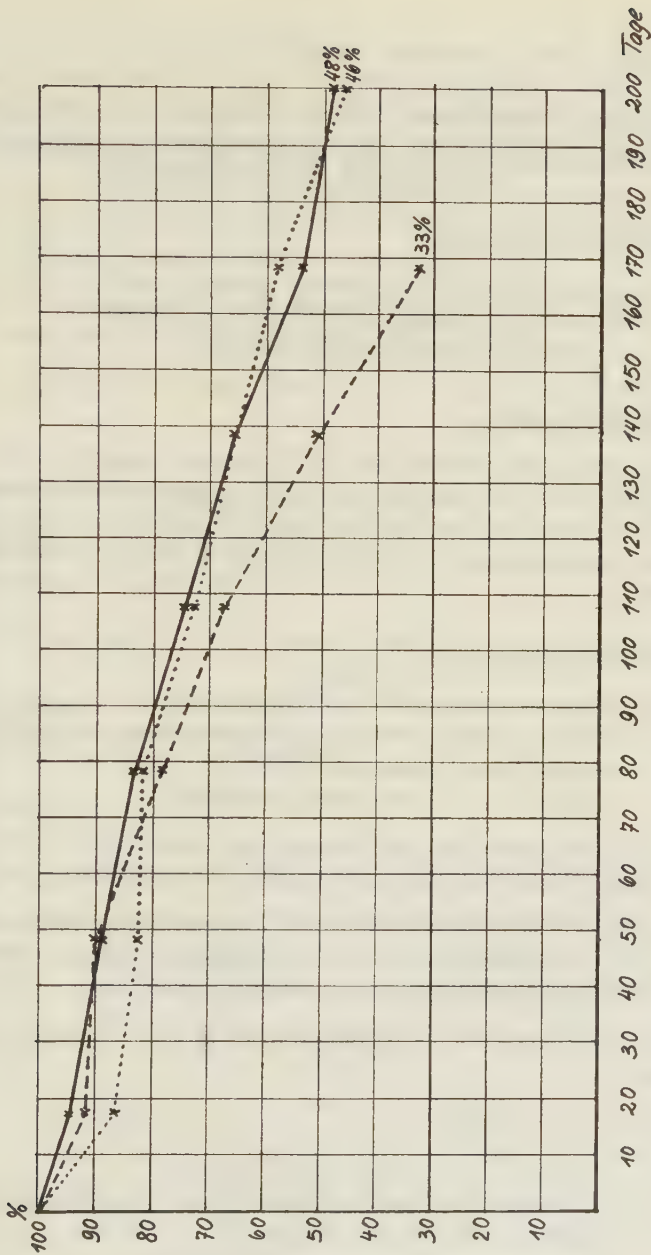
----- $i_2 \ddot{O}l$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % Antioxydantien-
Gemisch (Hoffmann-La Roche)

Lagerung: mit Luft durchperlt
bei Zimmertemperaturen

..... $i_3 \ddot{O}l$ - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.

Lagerung: mit Luft durchperlt
bei Zimmertemperaturen

Graphische Darstellung VIII



Versuch V:

Vergleichende Untersuchungen über die Stabilität von Vitamin A in, bei Lagerungsbeginn peroxydhaltigen, verschieden gelagerten Olivenölen und bei Verwendung neuartiger Antioxydantien

Verwendete Antioxydantien:

- 1.) 2,6-di-tertiärbutyl-4-methylphenol (= B.H.T.)
- 2.) Antioxydantiengemisch (Fa. Hoffmann-LaRoche)
- 3.) Diphenyl-p-phenylendiamin (D.PP.D.)

Versuchsbedingungen:

3 Proben 'frisches' Olivenöl (D.A.B.6) gleicher Provenienz wurden zu 33% mit einer bei 37° C, 148 Tage lang vorgelagerten Olivenölprobe 'verschnitten', wobei die ursprünglich sehr niedrige Lea-Zahl von 4 - 6 auf 26,0 anstieg. Jede Olivenölprobe wurde pro 1 g Ölmenge mit 800 IE Vit. A versetzt (Vitamin A-Acetat).

Gleichzeitig erhielten:

- a) 1 Ölprobe einen Zusatz von 0,05 % B.H.T.
- b) 1 Ölprobe einen Zusatz von 0,05 % natürliches Antioxydantiengemisch (Firma Hoffmann-La Roche.)
- c) 1 Ölprobe einen Zusatz von 0,05 % D.PP.D.

Die so vitaminisierten und mit Antioxydantien versetzten Olivenölproben wurden für eine Zeitdauer von 105 Tagen bei 37° C im Thermostaten gelagert.

3 Proben 'frisches' Olivenöl (D.A.B.6) gleicher Provenienz wurden zu 33% mit einer bei Zimmertemperaturen mit Luft durchperlten Ölprobe 'verschnitten'; dabei stieg die ursprünglich sehr niedrige Lea-Zahl von 4 - 6 auf 117,0 an.

Jede Ölprobe wurde pro 1 g Ölmenge mit 800 IE Vit. A versetzt (Vitamin A-Acetat).

Gleichzeitig erhielten:

- a) 1 Ölprobe einen Zusatz von 0,05 % B.H.T.
- b) 1 Ölprobe einen Zusatz von 0,05 % natürliches Antioxydantiengemisch (Firma Hoffmann-La Roche)
- c) 1 Ölprobe einen Zusatz von 0,05 % D.PP.D.

Die so vitaminisierten und mit Antioxydantien versetzten Olivenölproben wurden für eine Zeitdauer von 105 Tagen bei Zimmertemperaturen mit Luftsauerstoff durchperlt.

Sämtliche Olivenölproben wurden mittels der schon beschriebenen Methoden in Zeitabständen von 15 Tagen auf ihren Vitamin A-Gehalt untersucht. Nach Abschluß der Untersuchungen wurden die Lea-Zahlen in den verschiedenen gelagerten Olivenölproben erneut bestimmt (s. Tabellen).

Eine Störexstinktion des D.P.P.D. mit dem hier verwendeten FeCl_3 Reagens mußte bei der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen 12 und 13 zusammengefaßt.

Tabelle 12

K_1 öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.
Lagerung: im Thermostaten (37°C)

K_2 öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
(Firma Hoffmann-La Roche)
Lagerung: im Thermostaten (37°C)

K_3 öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.
Lagerung: im Thermostaten (37°C)

Ölproben	Lea-Zahl. bei Lagerungsbeginn	Vit.A-Gehalt bei 37°C gelagerten Olivenölproben u.b.Verwendung verschiedenartiger Antioxydantien in % des theor.Wertes (800 IE Vit.A/g) nach Lagerungszeit i.Tagen								Lea-Zahlen n. 105 Tg. Lagerung
		15	30	45	60	75	90	105		
K_1	26,0	69,0	66,0	65,0	64,0	62,0	59,0	56,0	40,0	
K_2	26,0	70,0	62,0	57,0	55,0	50,0	45,0	27,0	165,0	
K_3	26,0	77,0	68,0	60,0	54,0	48,0	41,0	35,0	32,0	

Tabelle 13

M₁Ö1 - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.

Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

M₂Ö1 - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürl. Antioxydantien-Gemisch
(Firma Hoffmann-La Roche)

Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

M₃Ö1 - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.PP.D.

Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

Ölproben	Lea-Zahlen bei Lage- rungsgeg.	Vit.A-Gehalt bei Luft durchperlten Oli- venölproben u. bei Verwendung verschiedener Antioxydantien in % des theor. Wertes (800 IE Vit. A/g) nach Lagerungszeit i/Tagen							Lea-Zah- len n. 105 Tg. Lagerung
		15	30	45	60	75	90	105	
M ₁	117,0	56,0	54,0	50,0	45,0	39,0	33,0	28,0	173,0
M ₂	117,0	7,0	wegen Auftreten eines Störstoffes kein Meßergebnis möglich						518,0
M ₃	117,0	46,0	46,0	43,0	34,0	26,0	10,0	5,0	248,0

Wie aus Tabelle 12 ersichtlich, sind die Vitamin-Verluste bei diesen dauerge-
lagerten (37° C) Olivenölproben, mit Zusätzen verschiedenartiger Antioxydan-
tien, unterschiedlich groß. Während bei Ölprobe K₁ (Zusatz von B.H.T.) nach
105-tägiger Lagerung bei 37° C noch 56,0 % Vitamin A aufgefunden werden konn-
ten, ist die Vitamin A-Stabilität in den gleichgelagerten Ölproben K₂ (Zusatz
von Antioxydantien-Gemisch) und K₃ (Zusatz von D.PP.D.) mit nur 27,0 % bzw.
35,0 % analysiertem Vitamin A-Gehalt erheblich geringer. Nach 30 Tagen Lage-
rungsdauer konnte allerdings bei diesen drei Ölproben (K₁, K₂ und K₃) ein
noch etwa gleich großer Prozentsatz Vitamin A gefunden werden. Auffallend ist
der relativ hoch angestiegene Peroxydgehalt bei der mit natürlichem Anti-
oxydantien-Gemisch versetzten Ölprobe K₂, während die anderen Antioxydantien
B.H.T. und D.PP.D. unter gleichen Lagerungsbedingungen eine verstärkte Peroxyd-

bildung offenbar verhindern können.

Vergleicht man nun die Untersuchungsergebnisse der in Bezug auf Lagerung und Stabilisierung zu den Ölproben K_1 , K_2 und K_3 analogen, aber zum Zeitpunkt der Vitaminierung nur geringgradig peroxydhaltigen (Lea-Zahlen 4 - 6) Olivenölproben h_1 , h_2 , h_3 des Versuches 4 mit denen in Tab. 12 (relativ hohe Lea-Zahlen bei Beginn der Lagerung: 26,0), so fällt auf, daß in den sich entsprechenden Ölproben nach gleicher Lagerungsdauer stark voneinander abweichende Vitaminverluste aufgetreten sind. Daraus darf man schließen, daß die Antioxydantien B.H.T., Antioxydantien-Gemisch Hoffmann-La Roche und D.P.P.D einen erheblich geringeren Stabilisierungseffekt auf das Vitamin A ausüben, wenn das Olivenöl zum Zeitpunkt des Zusatzes der Antioxydantien bereits einen höheren Gehalt an Peroxyden aufweist.

Ungleich größer wie bei den Proben K_1 , K_2 und K_3 waren die Vitamin A-Verluste in den mit Luft durchperlten Olivenölproben M_1 , M_2 und M_3 . So konnten bei Ölprobe M_1 und M_3 nur mehr 28,0 % bzw. 5,0 % des Vitamin A-Zusatzes nach 105-tägiger Lagerung ermittelt werden. Bei Ölprobe M_2 dagegen war bereits nach der zweiten Kontrolle, infolge eines bei der Farbreaktion des Vit. A mit $FeCl_3$ in der Testlösung aufgetretenen braungelben Störstoffes, kein Vitamin A mehr nachzuweisen. Durch chromatographische Reinigung der Testlösung an Al_2O_3 konnte der Störstoff nicht mehr abgetrennt werden. Der umfangreiche Abbau des Vitamins A in diesen Ölproben ist wohl auf die weitgehende Zersetzung dieser, bereits zu Beginn der Lagerung hochperoxydhaltigen Olivenölen zurückzuführen (s. Lea-Zahlen). Da bei einem Olivenöl mit hohem Verderbgrad durch Zusatz von Antioxydantien keine Verbesserung der Ölqualität im Sinne einer Erniedrigung des Peroxydgehaltes zu erreichen ist, kann auch, wie die Untersuchungsergebnisse beweisen, mit Hilfe von Antioxydantien keine ausreichende Vitamin A-Stabilität in solchen Olivenölen mehr erzielt werden. Es ist vielmehr zu erwarten, daß in hochgradig peroxydhaltigen Olivenölen, trotz Anwesenheit von Antioxydantien die Zersetzungsprozesse uneingeschränkt weiter um sich greifen (siehe Lea-Zahlen) und eine entsprechend schnelle Zerstörung des Vitamin A herbeiführen.

Zusammenfassung der Ergebnisse des Versuches V

Bei diesen, zum Zeitpunkt der Vitaminierung bereits peroxydhaltigen Olivenölproben des Versuches, war nur durch B.H.T., wenigstens bei den im Thermostaten gelagerten Olivenölproben, eine bemerkenswerte Stabilisierung des Vitamins A zu erreichen. Ein gleichwertiger Stabilisierungseffekt auf Vita-

min A, wie bei Verwendung von B.H.T. wurde durch die übrigen Antioxydantien (D.P.P.D. und natürliches Antioxydantien-Gemisch) nicht erreicht, wenn auch diese Antioxydantien nicht völlig unwirksam waren.

Dagegen konnte bei den mit Luft durchperlten, zum Zeitpunkt der Vitaminierung bereits hochperoxydhaltigen Olivenölproben (Lea-Zahl 117), keines der Antioxydantien eine ausreichende Vitamin A-Stabilität gewährleisten. Diese Versuchsergebnisse beweisen, daß selbst bei Oxydationsschutz durch sonst geeignete Antioxydantien in den Olivenölproben bei einem hohen Peroxydgehalt der Öle ein schneller, wenn auch dem Lea-Zahlenanstieg durchaus nicht proportionaler Abbau des Vitamins A erfolgt.

Graphische Darstellung IX

Abnahme der Vitamin A-Konzentrationen in 'verschnittenen' Olivenölproben (Lea-Zahl 26,0) während 105-tägiger Lagerung im Thermostaten (+ 37° C) bei Verwendung verschiedener neuartiger Antioxydantien.

_____ K₁ Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.

Lagerung: im Thermostaten (37° C)

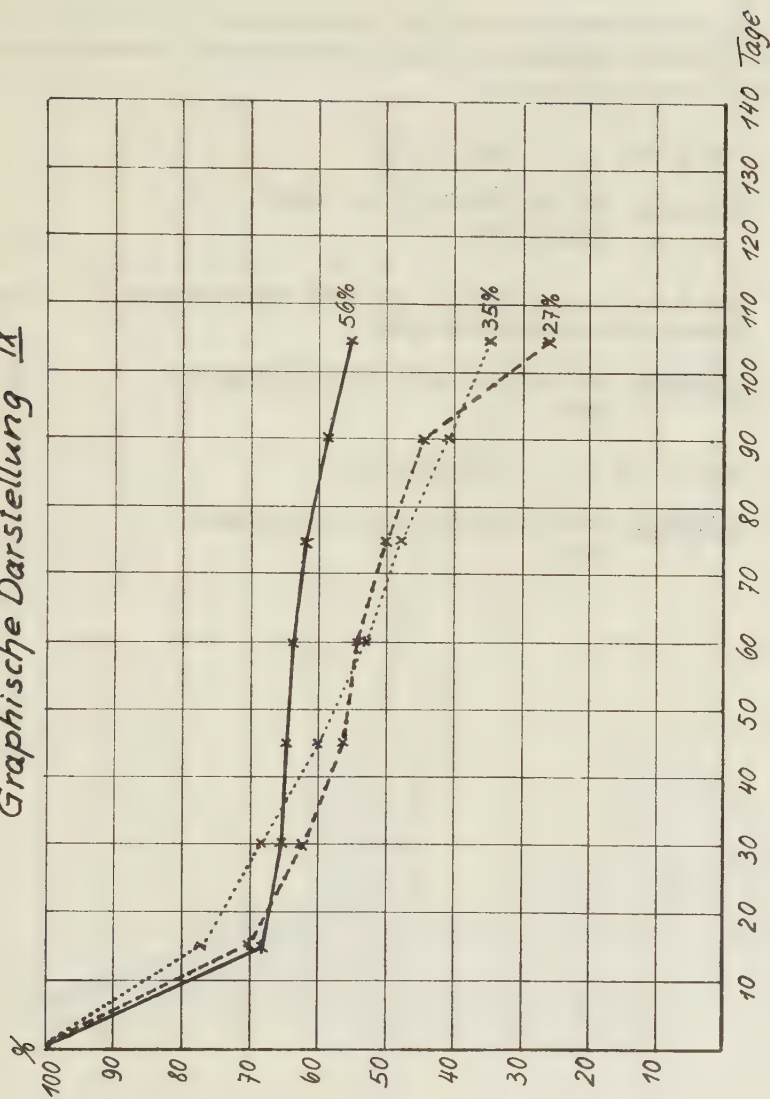
----- K₂ Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürliches
Antioxydantien-Gemisch (Fa. Hoffmann-La Roche)

Lagerung: im Thermostaten (37° C)

..... K₃ Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.

Lagerung: im Thermostaten (37° C)

Graphische Darstellung IX



Graphische Darstellung X

Abnahme der Vitamin A-Konzentration in 'verschnittenen' Olivenölproben (Lea-Zahl 117,0) während 105-tägiger Durchperlung mit Luft bei Verwendung verschiedener neuartiger Antioxydantien.

M₁Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % B.H.T.

Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

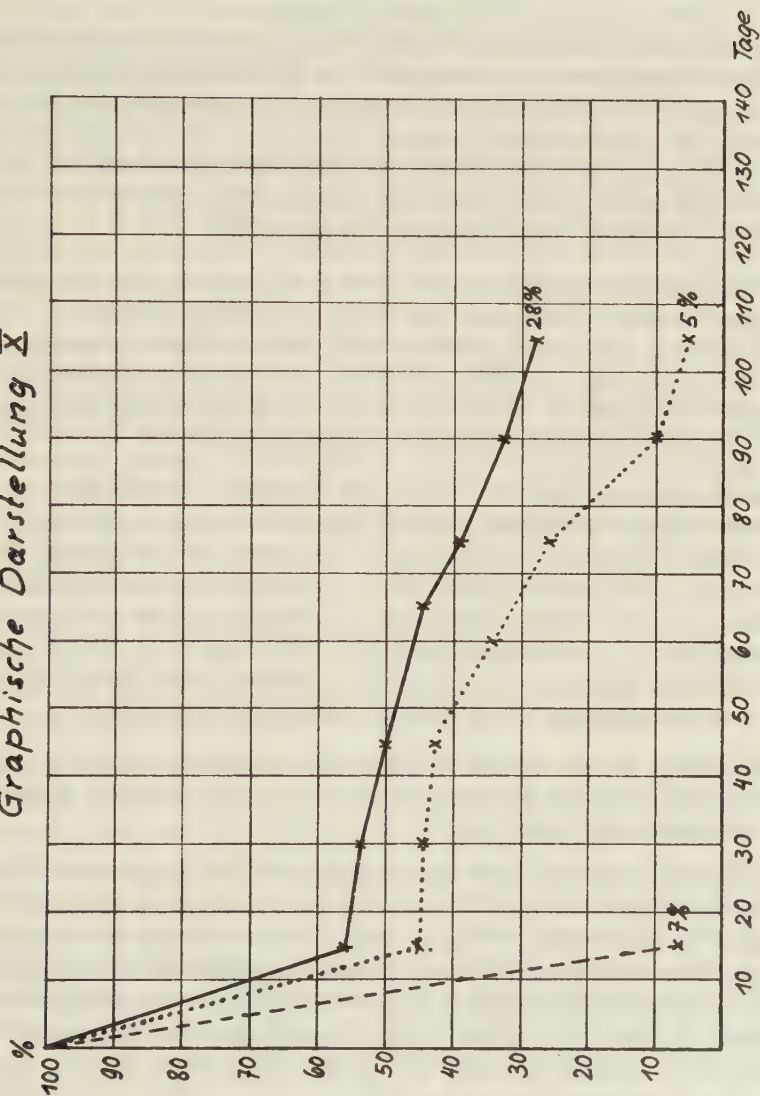
M₂Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % natürliches Antioxydantien-Gemisch (Firma Hoffmann-La Roche)

Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

M₃Öl - 800 IE Vit. A/g + 0,05 % D.P.P.D.

Lagerung: mit Luft durchperlt bei Zimmertemperaturen

Graphische Darstellung I



Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

Wie aus den Versuchsergebnissen ersichtlich ist, wurden bei sämtlichen vitaminisierten Olivenölproben, in Abhängigkeit von der Lagerungsart der Ölproben und der stofflichen Beschaffenheit der verwendeten Antioxydantien, sehr unterschiedliche Vitaminverluste festgestellt. Neben diesen kontrollierbaren Versuchsbedingungen wird jedoch, wie durch zahlreiche Untersuchungen belegt, die Stabilität eines Vitamin A-Zusatzes entweder direkt oder indirekt durch eine Reihe äußerer und innerer Faktoren mit beeinflusst.

Auf den außergewöhnlich subtilen Analysengang bei der Gewinnung des Vitamins A aus dem Ölmaterial wurde in der Einleitung schon näher eingegangen. In diesem Zusammenhang darf jedoch erwähnt werden, daß zahlreiche verborgene Fehlerquellen eine exakte Ermittlung des Vitamin A-Gehaltes oft erschweren. Deshalb erscheint es ratsam, bei der Auswertung von Untersuchungsergebnissen in jedem Fall das Resultat einer Doppelbestimmung heranzuziehen.

Wie aus dem Studium einschlägiger Literatur hervorgeht, besteht über die Oxydationsvorgänge in Olivenöl und ihre Verhinderung, die ja die Stabilität eines Vitamin A-Zusatzes hierin weitgehend bestimmen, noch keineswegs Übereinstimmung. Es ist deshalb verständlich, daß die vorliegenden Untersuchungsbefunde, vor allem auch im Hinblick auf die sich abspielenden Nebenreaktionen in den Olivenölen, gewissermaßen nur als die Relativwerte der betreffenden Versuchsbedingungen zu betrachten sind und keineswegs, etwa für die Beurteilung eines Antioxydantes, einen absoluten Maßstab darstellen können.

Bei der Prüfung der Wirksamkeit verschiedener Antioxydantien auf die Stabilität von Vitamin A in den Olivenölproben ergaben sich beträchtlich unterschiedliche Untersuchungsbefunde.

Ascorbylpalmitat hat sich unter den bei Versuch 1 und 2 gegebenen Versuchsbedingungen im Vergleich zu α -Tokopherol als ein nur wenig wirksames Antioxydans für das Vitamin A erwiesen. Dabei errechneten sich die zu Ungunsten des Ascorbylpalmitats liegenden Vitamin A-Verluste bei etwa gleich hohem Peroxydgehalt in den parallel gelagerten Vergleichsölen. Daraus darf man schließen, daß zwar durch Ascorbylpalmitat keine schwächere antioxygene Wirkung auf das Öl selbst, wohl aber auf die Stabilität des Vitamins A, im Vergleich zu α -Tokopherol ausgeübt wird.

Eine erhöhte Widerstandsfähigkeit von Olivenölen gegen Oxydation, infolge Ascorbylpalmitat-Zusatz ist, wenn auch in geringem Umfang vorhanden. Auch

A. HERRISSET (8) und andere Verfasser konnten mittels Ascorbylpalmitat-Zusätzen teilweise eine erhebliche Verzögerung der Verderbvorgänge in Olivenölen erreichen. Wie aus einigen Versuchen u.a. von BASU und BHATTACHARIA (9) hervorgeht, sind durch gleichzeitige Verwendung von Ascorbinsäure und phenolischen Antioxydantien, bei vitaminisierten vegetabilischen Ölen, bemerkenswerte Stabilisierungseffekte auf das Vitamin A zu erzielen.

Ganz im Gegensatz zu den mit Ascorbylpalmitat gewonnenen Erfahrungen stehen die Resultate, welche durch α -Tokopherol-Zusätze bei vitaminisierten Olivenölen erzielt wurden. Die Untersuchungsbefunde lassen den Schluß zu, daß zwar α -Tokopherol weniger eine intensive Verzögerung der Ölverschlechterung herbeiführen kann, um so mehr aber in der Lage ist, selbst bei einem relativ hohen Peroxydgehalt der Öle, eine beachtliche Vitamin A-Stabilität, wenigstens über einen gewissen Zeitraum, zu gewährleisten.

BASU und BHATTACHARIA (10) konnten bei Versuchen mit α -Tokopherol-Zusätzen in vegetabilischen Ölen keine erhebliche Verzögerung der Peroxydbildung feststellen. Dagegen hatte α -Tokopherol, nach Angaben der Verfasser, einen guten Stabilisierungseffekt auf das in Erdnußöl gelöste Vitamin A. Ganz analoge Untersuchungsbefunde in Bezug auf Tokopherol ergaben sich auch bei den hier vorliegenden Versuchen. Dieser Widerspruch zwischen einem guten Stabilisierungseffekt auf das Vitamin A einerseits, aber nur einer geringen Verzögerung der Peroxydbildung andererseits durch α -Tokopherol ist vorläufig nicht sicher zu klären. Ursächlich läßt sich vielleicht ein verschieden gelagerter Chemismus für Stabilisierungsvorgänge in Olivenöl einerseits und Vitamin A andererseits hierfür verantwortlich zu machen.

Über die antioxygenen Eigenschaften von 2,6-di-tertiärbutyl-4-methylphenol, Diphenyl-p-phenylendiamin und dem natürlichen Antioxydantien-Gemisch von Hoffmann-La Roche waren in der Literatur nur spärliche Angaben zu finden. Im allgemeinen haben von diesen neuartigen Antioxydantien nur das B.H.T. und D.P.P.D. als Vitamin A-Stabilisatoren, unter den vorhandenen Versuchsbedingungen, den gestellten Erwartungen in befriedigender Weise entsprochen. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß einerseits weitgehende, durch besondere Lagerungsbedingungen verursachte Ölverschlechterung wie bei diesen Versuchen in der Praxis kaum erreicht und daher der Stabilisierungseffekt auf Vitamin A durch die genannten Antioxydantien bei geringerem Peroxydgehalt verständlicherweise größer sein wird.

Nach Angaben der Herstellerfirma Hoffmann-La Roche soll das für die Versuche zur Verfügung gestellte, aus natürlichen Bestandteilen zusammengesetzte Antioxydantien-

tiengemisch, in einer Konzentration von 0,1 % Schmalz für ein Jahr stabilisieren. Über einen Stabilisierungseffekt auf Vitamin A lagen keine Angaben vor. Wie jedoch die vorliegenden hohen Lea-Zahlen andeuten, besitzt es bei Ölproben, die einer erhöhten, länger andauernden Wärme-, insbesondere aber Sauerstoffbelastung ausgesetzt sind, nur in geringem Ausmaß antioxygene Eigenschaften. Daraus erklärt sich, daß sein Stabilisierungseffekt auf das Vitamin A ganz erheblich gegenüber dem der Antioxydantien B.H.T. und D.P.P.D. zurückbleibt.

An dieser Stelle ist es mir eine angenehme Pflicht,

Herrn Prof. Dr. Dr. Johannes BRÜGGEMANN
für die Überlassung des Themas zu danken.

Außerdem danke ich

Herrn Dr. Dr. Jürgen TIEWS
für die mir jederzeit bereitwilligst gewährte Unterstützung.

Literaturverzeichnis

1. Juckenack, A.: Handbuch der Lebensmittelchemie
Verlag: Julius Springer-Berlin, Bd.4, 1939
2. Macuse, M. und Borgström: Fette und Seifen, Heft 8, 545, 1953
3. Raeithal, H.: Fette u. Seifen, Heft 10, 799, 1955
4. Purr, A.: Fette u. Seifen, Heft 5, 317, 1953
Heft 6, 389, 1953
5. Curli, G.: Fette u. Seifen, Heft 11, 984, 1955
6. Franzke, : Zschr.f.Lebensmittelunters. und Lebensmittel-
forschung 103, 108, 1956
7. Brüggemann, J., Krauss, W.,
Tiews, J.: Zeitschr.f.analyt. Chemie, Bd. 141, 3. Heft,
1954
8. Herrisset, A.: Trav. Laborat. Mat. Méd. et. Pharmacol l'Ecole
de Plein Exercice de Méd. et Pharmacie D'Angers
I, 1-4, 1954
zit. n. Gesammelte Berichte für Physiologie
u. physiologische Chemie, 177, 141
9. Basu und Bhattacharia: Bengal Immun.Res.Inst.Calcutta,
I.Indian Chem. Soc. 31, 241-249, 1954
10. Basu und Bhattacharia: Bengal Immun.Res.Inst. Calcutta,
J.Indian Chem. Soc. 31, 231 - 240, 1951
Zit. n. Gesammelte Berichte für Physiologie u.
physiolog. Chemie 157, 159
11. Täufel, K.: Fette u. Seifen, Heft 2, 87, 1957.

Lebenslauf

Ich, Edmund Hollrotter, wurde am 10. Dezember 1925 als Sohn des städtischen Beamten Franz Hollrotter und seiner Ehefrau Magdalena in München geboren.

Nach 5 Jahren Volksschulbesuch trat ich in die hiesige Oberrealschule für Jungen an der Damenstiftstraße über und erlangte dort die mittlere Reife.

Im Jahre 1943 wurde ich zur Wehrmacht einberufen. Bei Kriegsende geriet ich in amerikanische Gefangenschaft, aus der ich im April 1946 entlassen wurde.

Von 1946 bis 1947 besuchte ich in München-Pasing einen Kriegsteilnehmer-Sonderlehrgang, den ich mit dem Abitur abschloß.

Das Studium an der tiermedizinischen Fakultät in München begann ich nach Ableistung des Aufbaudienstes im Wintersemester 1948/49. Seit 1955 bin ich am Städtischen Schlachthof in München als Beschau-Tierarzt beschäftigt.

Von Juni 1955 bis Dezember 1957 war ich mit der vorliegenden Arbeit beschäftigt.

